

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 300 372 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) G 01 N 33/48
G 01 N 33/53

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD G 01 N / 342 638 8
(31) 378,039

(22) 09.07.90
(32) 11.07.89

(44) 04.06.92
(33) US

(71) siehe (73)

(72) Messenger, Lowry J., US; Nelson, Christine D., US; Wogoman, Frank W., US; Yip, Kin-Fai, CN

(73) MILES INC., Indiana 46515, US

(54) Reaktionskassette zur Durchführung sequentieller analytischer Assays auf Basis nicht-zentrifugaler und nicht-kapillarer Handhabungen

(55) Reaktionskassette; Assayverfahren, immunoturbidimetrische; Verfahren; flüssige Testmischung;

Durchmischung; Rotation; niedrige Geschwindigkeiten, nicht-zentrifugal; Gravitationskraft; Hämoglobin

(57) Reaktionskassette für Analysen und Verfahren zur Durchführung sequentieller analytischer Assayverfahren, um die Menge eines Analyt in einer flüssigen Testmischung zu bestimmen. Die Reaktionskassette kann in der Form eines im wesentlichen viereckigen Behälters vorliegen, der eine im wesentlichen waagerechten Rotationsachse aufweist und mit einem oder mehreren Analysereagenzien beaufschlagt ist, so daß sie mit einer flüssigen Testmischung in einer gewünschten Reihenfolge in Kontakt gebracht werden, um ein besonderes Assayverfahren durchzuführen. Eckeneinbauten, die durch die im wesentlichen viereckige Konfiguration der Reaktionskassette bereitgestellt werden, unterbrechen den Fluß von in die Reaktionskassette eingebrachten Flüssigkeiten, und zwar bei Kontakt mit ihnen, um dadurch diese Flüssigkeiten in Bewegung zu setzen und zu durchmischen. Eine in die Reaktionskassette eingebrachte Flüssigkeit ist befähigt, durch die Rotation der Rotationskassette um die Horizontalachse gehandhabt und darin vermischt zu werden, und zwar bei hinreichend niedrigen Geschwindigkeiten, wobei der Transport dieser Flüssigkeit nicht-zentrifugal abläuft und im wesentlichen lediglich auf der Gravitationskraft beruht. Die Reaktionskassette ist besonders geeignet zur Durchführung immunoturbidimetrischer Assays z. B. zur Bestimmung von glyciertem Hämoglobin.

ISSN 0433-6461

21 Seiten

US 5,162,237

Patentansprüche:

Reaktionskassette zur Durchführung sequentieller analytischer Assays auf Basis nicht-zentrifugaler und nicht-kapillarer Handhabungen

1. Verfahren zur Durchführung von Analysereaktionen, um einen Analyt in einer flüssigen Testprobe zu bestimmen, wobei man:
 - (a) eine Reaktionskassette mit einer im wesentlichen horizontalen Rotationsachse bereitstellt, wobei diese Reaktionskassette
 - (1) ein Einlaßelement zur Einführung einer flüssigen Testprobe in die genannte Reaktionskassette, und
 - (2) einen Reaktionskanal umfaßt, der in offener Flüssigkeitsverbindung mit dem Einlaßelement steht, und
 - (i) eine Reagenszone, die mit einem Analysereagens beaufschlagt ist, das mit dem genannten Analyt wechselwirkt, um eine nachweisbare Reaktion als eine Funktion des Analyt zu erzeugen, und
 - (ii) Elemente zur Unterbrechung des Flusses einer Flüssigkeit durch Schwerkraft entlang des genannten Reaktionskanals enthält, und zwar hinreichend, um die genannte Flüssigkeit bei Kontakt damit in Bewegung zu versetzen, wobei diese Flüssigkeit befähigt ist, durch Schwerkraft entlang des Reaktionskanals durch Rotation der Reaktionskassette um die Horizontalachse transportiert und dadurch in Kontakt mit der Reagenszone und dem Flußunterbrechungselement gebracht zu werden;
 - (b) die flüssige Testprobe in den Reaktionskanal der Reaktionskassette durch das Einlaßelement einführt und eine flüssige Reaktionsmischung in dem Reaktionskanal bildet;
 - (c) die Reaktionskassette um die Horizontalachse dreht, um die flüssige Mischung durch Schwerkraft entlang des Reaktionskanals zu transportieren, in Kontakt mit dem Analysereagens in der Reaktionszone und in Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen zu bringen;
 - (d) die Reaktionskassette um die Horizontalachse oszilliert, um die flüssige Mischung in Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen hinreichend in Bewegung zu halten, um die Testprobe und das Analysereagens in der Mischung gründlich zu durchmischen; und
 - (e) die nachweisbare Reaktion in der flüssigen Mischung mißt.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Flußunterbrechungselemente und die Reagenszone hinreichend nahe beieinander angeordnet sind, daß die flüssige Mischung gleichzeitig in Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen und der Reagenszone stehen kann.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Flußunterbrechungselement ein Konvergenzpunkt im Wandbereich des Reaktionskanals ist, welcher einen Winkel von ca. 75° und ca. 105°, vorzugsweise von ca. 90°, bildet.
4. Verfahren gemäß jedem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Rotationsgeschwindigkeit der Reaktionskassette um die Horizontalachse für den Transport der flüssigen Mischung entlang des Reaktionskanals und in Kontakt mit dem Reagens und dem Flußunterbrechungselement hinreichend langsam ist, um im wesentlichen nicht-zentrifugal zu sein und im wesentlichen lediglich auf der Gravitationskraft zu beruhen, und vorzugsweise zwischen ca. 1 U. p. m. und ca. 60 U. p. m. beträgt.
5. Verfahren gemäß jedem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Maximalgeschwindigkeit der Rotation der Reaktionskassette während ihrer Oszillation zur Bewegung der flüssigen Mischung in Kontakt mit dem Flußunterbrechungselement zwischen ca. 15 U. p. m. und ca. 40 U. p. m. liegt.
6. Verfahren gemäß jedem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Reagenszone mit einer getrockneten Form des Analysereagens beaufschlagt ist.
7. Verfahren gemäß jedem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Reaktionskanal eine Vielzahl von Reagenszonen, die mit einer Vielzahl von Analysereagenzien beaufschlagt sind, enthält, und wobei die Rotation der Reaktionskassette um ihre Horizontalachse angewandt wird, um die flüssige Mischung im Reaktionskanal in Kontakt mit einer jeden dieser Reagenszonen durch Schwerkraftfluß zu bringen, und wobei die flüssige Mischung in Kontakt mit Flußunterbrechungselementen durch Oszillation der Reaktionskassette um ihre Horizontalachse in Bewegung gehalten wird.

8. Verfahren gemäß Anspruch 1 zur immunoturbidimetrischen Bestimmung der relativen Menge von glyciertem Hämoglobin in einer Bluttestgesamtprobe, wobei man:
 - (a) einen Kapillarhalter, der ein kapillares Probenrohr umfaßt, bereitstellt,
 - (b) die Bluttestgesamtprobe in das kapillare Probenrohr im Kapillarhalter zieht,
 - (c) eine Reaktionskassette mit einer im wesentlichen horizontalen Rotationsachse bereitstellt, wobei die Reaktionskassette
 - (1) einen Reaktionskanal umfaßt, der in der Rotationsebene um die Horizontalachse angeordnet ist und
 - (i) eine äußere Perimeterwand mit ersten und zweiten Ecken, die Winkel in der Perimeterwand von ca. 75° und ca. 105°, vorzugsweise von ca. 90°, bilden,
 - (ii) eine erste Reagenszone, die mit einem Oxidationsmittel beaufschlagt ist, das befähigt ist, Hämoglobin in seine Met-Hämoglobin-Form zu überführen,
 - (iii) eine zweite Reagenszone, die mit einem Antikörper-Partikelreagens beaufschlagt ist, und
 - (iv) eine dritte Reagenszone, die mit einem Agglutinatorreagens beaufschlagt ist, enthält, wodurch eine Flüssigkeit, die in den Reaktionskanal eingebracht wird, befähigt wird, durch die Schwerkraft entlang des Reaktionskanals transportiert und in Kontakt mit den genannten Ecken und den genannten Reagenszonen durch Rotation der Reaktionskassette um ihre Horizontalachse gebracht zu werden,
 - (2) wobei die Reaktionskassette ferner ein Flüssigkeitsabgabeelement zur Einführung einer wäßrigen Lösung eines Hämoglobindenaturierungsmittels in den Reaktionskanal, und
 - (3) eine Einlaßöffnung umfaßt, die mit dem Kapillarhalter in Verbindung gebracht werden kann, um das kapillare Probenrohr nahe der genannten ersten Ecke des Reaktionskanals anzuordnen,
 - (d) den Kapillarhalter in die Einlaßöffnung des Reaktionsgefäßes einbringt,
 - (e) das Flüssigkeitsabgabeelement in Aktion bringt, um die Denaturierungslösung in den Reaktionskanal des Reaktionsgefäßes einzulassen,
 - (f) die Reaktionskassette um ihre Horizontalachse mit einer Geschwindigkeit von ca. 1 U. p. m. bis ca. 60 U. p. m. rotiert, um die Denaturierungslösung entlang dem Reaktionskanal durch die Schwerkraft zur ersten Ecke des Reaktionskanals zu transportieren und in Kontakt mit dem kapillaren Probenrohr und dem Oxidationsmittel in der ersten Reagenszone zu bringen,
 - (g) die Reaktionskassette um ihre Horizontalachse bei einer Geschwindigkeit von ca. 15 U. p. m. bis ca. 40 U. p. m. oszilliert, um die Denaturierungslösung in der ersten Ecke in Kontakt mit dem kapillaren Probenrohr und der mit dem Oxidationsmittel beaufschlagten ersten Reagenszone hinreichend in Bewegung zu halten, um die Blutprobe aus dem Kapillarrohr zu extrahieren und eine Reaktionsmischung mit dem Denaturierungsmittel und dem Oxidationsmittel zu bilden,
 - (h) die Reaktionskassette nicht-zentrifugal rotiert, um die sich ergebende flüssige Mischung zu einer Sichtzone in der ersten oder zweiten Ecke zu transportieren, und die Absorbtion von met-Hämoglobin in der flüssigen Mischung in der Sichtzone mißt,
 - (i) die Reaktionskassette um ihre Horizontalachse rotiert, um die flüssige Reaktionsmischung entlang dem Reaktionskanal zu transportieren, und zwar in Kontakt mit den zweiten und dritten Reagenszonen und der zweiten Ecke,
 - (j) die Reaktionskassette um ihre Horizontalachse oszilliert, um die flüssige Reaktionsmischung in der zweiten Ecke in Bewegung zu halten, und zwar in hinreichendem Kontakt mit den zweiten und dritten Reagenszonen, um die flüssige Mischung und die Antikörper-Partikel- und Agglutinator-Reagenzien gründlich zu durchmischen,
 - (k) die Reaktionskassette rotiert, um die sich ergebende flüssige Mischung durch Schwerkraft zur Sichtzone in der ersten oder zweiten Ecke zu transportieren, die Absorbtion der flüssigen Mischung in der Sichtzone mißt und das Verhältnis der in der Stufe (h) gemessenen Absorbtion zu dieser endgültigen Absorbtionsmessung als eine Funktion der relativen Menge an glyciertem Hämoglobin in der getesteten Blutprobe in Beziehung setzt.
9. Analysereaktionskassette zur Durchführung des Verfahrens gemäß jedem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Reaktionskassette dadurch gekennzeichnet ist, daß sie eine im wesentlichen horizontale Rotationsachse aufweist und umfaßt:

- (1) ein Einlaßelement zur Einführung einer flüssigen Testprobe in die Reaktionskassette und
- (2) einen Reaktionskanal, der in offener Flüssigkeitsverbindung mit dem Einlaßelement steht und enthält
 - (i) eine Reagenszone, die mit einem Analysereagens beaufschlagt ist, das mit dem Analyt wechselwirkt, um eine nachweisbare Reaktion als eine Funktion des Analyt zu ergeben, und
 - (ii) Elemente zur Unterbrechung des durch Schwerkraft entlang dem Reaktionskanal sich vollziehenden Flusses einer Flüssigkeit, welche ausreichend sind, um die genannte Flüssigkeit bei Kontakt damit in Bewegung zu versetzen, wodurch eine in den Reaktionskanal eingebrachte Flüssigkeit befähigt wird, durch die Schwerkraft entlang dem Reaktionskanal durch die Rotation des Reaktionsgefäßes um die Horizontalachse transportiert und dadurch in Kontakt mit der Reagenszone und dem Flußunterbrechungselement gebracht zu werden.
10. Reaktionskassette gemäß Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Flußunterbrechungselement und die Reagenszone hinreichend nahe zueinander angeordnet sind, so daß eine Flüssigkeit in gleichzeitigem Kontakt mit dem Flußunterbrechungselement und der Reagenszone stehen kann.
11. Reaktionskassette von Anspruch 9 oder 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Flußunterbrechungselement ein Konvergenzpunkt in einem Wandbereich des Reaktionskanals ist, der einen Winkel von ca. 75° bis ca. 105°, vorzugsweise von ca. 90°, bildet.
12. Reaktionskassette gemäß jedem der Ansprüche 9 bis 11, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Reagenszone mit einer getrockneten Form des Analysereagens beaufschlagt ist.
13. Reaktionskassette gemäß jedem der Ansprüche 9 bis 12, die auch ein Element zur Einführung eines flüssigen Analysereagens in den Reaktionskanal enthält.
14. Reaktionskassette gemäß jedem der Ansprüche 9 bis 13, die ein Element zur Einführung einer flüssigen Testprobe in den Reaktionskanal durch das Einlaßelement enthält.
15. Reaktionskassette gemäß jedem der Ansprüche 9 bis 14, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Reaktionskanal ferner eine Sichtzone für die Reaktionsmischung in offen fließender Flüssigkeitsverbindung mit der Reaktionszone enthält.
16. Reaktionskassette gemäß jedem der Ansprüche 9 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Reaktionskanal eine Vielzahl von Reagenszonen enthält, die mit einer Vielzahl von Analysereagenzien beaufschlagt sind.
17. Immunoturbidimetrischer Reaktionskassettenkit zur Durchführung des Verfahrens von Anspruch 8, um die relative Menge an glyciertem Hämoglobin in einer Bluttestgesamtprobe zu bestimmen, wobei der genannte Kit **gekennzeichnet ist durch**
 - (A) einen Kapillarhalter, der ein kapillares Probenrohr umfaßt, und
 - (B) einen Reaktionskassettenkörper, der eine im wesentlichen horizontale Rotationsachse aufweist und umfaßt
 - (1) einen Reaktionskanal, der in der Rotationsebene um die genannte Horizontalachse angeordnet ist und enthält
 - (i) eine äußere Perimeterwand mit ersten und zweiten Ecken, die Winkel in der Perimeterwand von ca. 75° bis ca. 105°, vorzugsweise von ca. 90°, bilden,
 - (ii) eine erste Reagenszone, nahe zur ersten Ecke und beaufschlagt mit einem Oxidationsmittel, befähigt zur Überführung von Hämoglobin in seine Met-Hämoglobin-Form,
 - (iii) eine zweite Reagenszone, beaufschlagt mit einem Antikörper-Partikelreagens, und
 - (iv) eine dritte Reagenszone, beaufschlagt mit einem Agglutinatorreagens, wobei eine in den Reaktionskanal eingebrachte Flüssigkeit durch Rotation der Reaktionskassette um ihre Horizontalachse befähigt wird, durch die Schwerkraft entlang dem Reaktionskanal transportiert und in Kontakt mit den Ecken und den Reagenszonen gebracht zu werden,
 - (2) ein Flüssigkeitsabgabeelement zur Einführung einer wäßrigen Lösung von Hämoglobindenaturierungsmittel in den Reaktionskanal, und
 - (3) eine Einlaßöffnung, die mit dem Kapillarhalter in Verbindung gebracht werden kann, um das kapillare Probenrohr nächstliegend zur ersten Ecke des Reaktionskanals anzuordnen.

Hierzu 6 Seiten Zeichnungen

Die vorliegende Erfindung betrifft analytische Assayverfahren zur Bestimmung der Menge eines in einer Testprobe vorliegenden Analyt, wobei Flüssiganalysereaktionen zwischen dem Analyt und einem oder mehreren Analyse-reagentien eingeschlossen sind, welche für diese Bestimmung bestimmte Handhabungsmaßnahmen erforderlich machen. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung ein Reaktionsgefäß zur Durchführung sequentieller Analyse-reaktionen, wobei eines oder mehrere Analyse-reagentien eingebracht werden und Handhabungen durchgeführt werden können, die nicht auf Zentrifugalkräften beruhen, um diese Analyseverfahren durchzuführen, und zwar durch die nicht-kapillare Bewegung der vorliegenden Flüssigkeiten.

Es sind verschiedene Analyseverfahren zur Bestimmung von Analyten von industrieller, die Umwelt betreffender und insbesondere medizinischer Bedeutung entwickelt worden. In vielen Fällen machen diese Analyseverfahren eine Vielzahl analytischer Reaktionen erforderlich, welche die Handhabung einer flüssigen Reaktionsmischung einschließen und in den meisten Fällen in Abfolge durchgeführt werden müssen, um ein Assayprotokoll auszuführen. Handhabungen, wie Pipettieren, Mischen und Rühren, Perioden von Inkubation, Zentrifugation, Trennstufen und dgl., sind Fehlern unterworfen, die zu ungenauen Ergebnissen führen können. Obwohl verschiedene Vorrichtungen in dem Versuch entwickelt worden sind, diese Handhabungen zu automatisieren oder anderweitig zu vereinfachen, sind diese Vorrichtungen nur unter Aufwand zu benutzen und erfordern eingeübte, erfahrene Techniker. In einigen Fällen machen diese Vorrichtungen immer noch eine Anzahl von Handhabungsschritten während des Ausführungsablaufs eines Assayprotokolls erforderlich, insbesondere zur Durchführung von Proben-transfer und Mischstufen.

Beispielsweise beschreiben US-PS 4,673,653 und 4,743,558 Verfahren zur Durchführung biologischer Analysen von flüssigen Proben, unter Verwendung abgeteilter Kunststoffbehälter, bei denen eine Anzahl von Zentrifugationsstufen erforderlich ist. Die Behälter umfassen eine Lagerungskammer für eine flüssige Probe, eine Eichzelle, mehrere Lagerungskammern für verschiedene Reaktionsflüssigkeiten und ein Reaktionsgefäß. Die verschiedenen Kammern, die Eichzelle und das Reaktionsgefäß sind miteinander durch kapillare Leitungen verbunden, um die Flüssigkeiten untereinander durch Zentrifugalkraft in Verbindung zu bringen. Zur Ausführung der biologischen Analysen werden aufeinanderfolgend Zentrifugationsschritte durchgeführt, wobei die Winkelposition der Behälter für jede Zentrifugationsstufe als Funktion der Orientierung einer besonderen kapillaren Leitung ausgewählt wird, und zwar relativ zur Richtung der Zentrifugalkraft, um die Handhabung einer in die Vorrichtung eingebrachten Flüssigkeit zu erleichtern.

Obwohl verschiedene Vorrichtungen zur Durchführung von Analyse-reaktionen vorgeschlagen worden sind, in denen keine Zentrifugationsstufen erforderlich sind, benötigen diese Vorrichtungen dennoch eine Anzahl aufwendiger Handhabungsstufen, die die vorgenannten Probleme aufwerfen. Beispielsweise beschreibt US-PS 4,690,801 eine händisch betriebene Vorrichtung, die eine Scheibe mit einer dünnen, flexiblen Membran auf einer Seite davon enthält, welche einen Leitungsweg und eine Vielzahl von Reagensreservoirs festlegt, die durch brechbare Verschlüsse voneinander getrennt sind. Ein Assayrohr ist an einem Ende des Leitungsweges und ein Probeninjektionsreservoir am anderen Ende des Leitungsweges angeordnet. Die Scheibe ist in einen Basisteil eingepaßt und ein Abdeckteil mit einer Rollerstange ist über der Basis eingepaßt, wobei die Rollerstange die Scheibenoberfläche besetzt. Bei Betrieb der Vorrichtung wird die Abdeckung relativ zur Scheibe rotiert, wodurch die Rollerstange auf die Reservoirs Druck ausübt, um die brechbaren Verschlüsse zu brechen und die Reagenzien aus ihren jeweiligen Reservoirs in den Leitungsweg zu zwingen, um den Assay auszuführen.

In ähnlicher Weise sind andere Vorrichtungen zur Durchführung von Analyse-reaktionen, die in dem Bestreben vorgeschlagen worden sind, die oben beschriebenen Probleme zu überwinden, die durch Zentrifugation und andere aufwendige Maßnahmen auftreten, dennoch kompliziert und in einigen Fällen teuer herzustellen. Zudem werden in diesen Vorrichtungen keine einfachen und bequemen Verfahrens-stufen bereitgestellt, um Analyse-reagentien mit einer in diese Vorrichtungen eingebrachten Testprobe zu vermischen.

Beispielsweise beschreibt DE-OS 3706718 eine Vorrichtung zur Durchführung heterogener Reaktionen, welche als deren Komponenten einen ersten kapillar-aktiven Träger, der mit einem unlöslichen Reagens beaufschlagt und in einer ersten Meßkammer angeordnet ist, und einen zweiten kapillar-aktiven Träger, beaufschlagt mit einem löslichen Reagenz, in einer ersten Vorkammer enthält, die in kapillarem Kontakt mit der Meßkammer steht. Eine erste Einlaßkammer, zur Aufnahme einer Probe und anschließender Wasch- oder Spüllösungen durch eine Einfüllöffnung in die Vorrichtung, ist mit der Vorkammer durch eine kapillare Struktur verbunden, und die Meßkammer ist ferner mit einer Auslaßkammer durch eine kapillare Struktur verbunden, durch die eine Flüssigkeit nur unter einer gegebenen Schwerkraft fließen kann. Die kapillare Struktur ist im wesentlichen ein eindimensionales Gitter, das wegen der Oberflächenspannung einer von oben auf die Gitteröffnungen auftreffenden Flüssigkeit anfänglich die Flüssigkeit nicht hindurchtreten läßt und den Durchlauf einer Flüssigkeit nur unter einem vorbestimmten Druck, wie er durch die Schwerkraft bestimmt wird, zuläßt.

Es werden auch andere Ausgestaltungen dieser Kapillarvorrichtung beschrieben, die des weiteren eine zusätzliche Einlaßkammer mit Einfüllöffnung und eine zweite Vorkammer enthält, die über eine dritte Kapillare mit einer Mischkammer verbunden ist, die ihrerseits wiederum mit einer vierten Kapillare mit einer Meßkammer verbunden ist. Eine Ausgußöffnung ragt in die Mischkammer, über welche die Flüssigkeit aus der dritten Kapillare in die Mischkammer fließt, wenn die Mischkammer gekippt wird. Es wird auch eine fünfte Kapillare beschrieben, die zur Meßkammer führt, welche den ersten Kapillarträger enthält und mit der ersten Meßkammer über ein statisches Einwegventil für den Kapillarfluß verbunden ist. Die kapillaren Träger sind durch ihre Absorptionskapazität und ihre Absorptionsstärke gekennzeichnet, welche gemäß der Saughöhe definiert ist, auf welche sie Flüssigkeit in einer gegebenen Zeit saugen.

Eine solche Kapillarvorrichtung macht jedoch eine Anzahl im Inneren angeordneter Abteilungen für ihren Zusammenbau erforderlich, welche oft zu teuren und komplizierten Herstellungsverfahren führen können. Zudem hängt die Bewegung der Flüssigkeit durch die Vorrichtung von der Saugstärke der Trägermaterialien ab, was zu ineffizienten und unzuverlässigen Ergebnissen führen kann, falls keine sorgfältige Auswahl getroffen wird.

Demzufolge ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung für das notwendige Vermischen einer Probe und für die Transferstufe zur Verfügung zu stellen, um aufeinanderfolgende Analyse-reaktionen in flüssigen Testmischungen durchzuführen.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Vorrichtung zur Durchführung sequentieller analytischer Assayverfahren bereitzustellen, welche nicht auf einer zentrifugalen oder kapillaren Bewegung von Flüssigkeiten beruht.

Es ist noch ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung zur Durchführung sequentieller analytischer Assayverfahren bereitzustellen, welche eine Minimalzahl von Handhabungsstufen erforderlich macht und leicht zu handhaben und zu bedienen ist.

Ferner ist es noch eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Vorrichtung zur Durchführung sequentieller analytischer Assayverfahren bereitzustellen, welche in einer Arztpraxis oder einem kleinen klinischen Labor leicht anwendbar ist. Die vorliegende Erfindung stellt eine Reaktionskassette bzw. ein darin enthaltenes Reaktionsgefäß sowie ein Verfahren zur Durchführung analytischer Assayverfahren bereit, worin aufeinanderfolgende Analysereaktionen in einer flüssigen Testmischung zwischen einem Analyt und einem oder mehreren Analysereagenzien ablaufen, die mit dem Analyt reagieren, um ein nachweisbares Signal zu erzeugen. Die Vorrichtung ist besonders geeignet zur Durchführung von Immunoassays, die typischerweise eine Anzahl von Vermischungsstufen wie auch andere aufwendige Handhabungsmaßnahmen, wie Pipettieren und die Inkubation einer Testprobe und flüssiger Testmischungen, erforderlich machen. Die notwendige sequentielle Reagenszugabe und die Vermischungsstufen werden innerhalb der Vorrichtung vollzogen, und zwar durch (a) die nicht-zentrifugale Rotation der Vorrichtung bei relativ niedrigen Geschwindigkeiten, was zum Gravitationsfluß einer Flüssigmischung zu Zonen oder Bereichen in der Vorrichtung führt, die zur Durchführung der verschiedenen funktionalen Stufen des Assays entworfen sind, und durch (b) Oszillation der Vorrichtung, um die flüssige Mischung bei Berührung mit Flußunterbrechungselementen, wie einer Ecke einer viereckigen Kassette, in Bewegung zu versetzen. Erfindungsgemäß werden in die Vorrichtung eines oder mehrere der notwendigen Analysereagenzien eingebracht, um ein besonderes sequentielles Analyseassayverfahren auszuführen. In der Vorrichtung wird eine flüssige Testmischung gebildet und kann aufeinanderfolgend mit den Analysereagenzien zusammengebracht und umgesetzt werden, wobei keine Maßnahmen auf Basis kapillarer Wirkungen zugrunde liegen, und die sich ergebenden Flüssigmischungen werden bei relativ niedrigen Geschwindigkeiten in Bewegung versetzt und vermischt, ohne die Notwendigkeit zusätzlicher äußerer Handhabungsmaßnahmen, um den Assay zu beenden. Die Vorrichtung läßt auch die bequeme Messung der nachweisbaren Reaktion zu, die durch die Analysereaktionen zwischen dem Analyt und den Analysereagenzien hervorgerufen wird und, wenn eine oder mehrere nachweisbare Reaktionen im Anschluß an die oder während der Durchführung des Assays hervorgerufen werden, ist eine leichte Handhabung der Vorrichtung gegeben, um deren bequeme Messung in der Vorrichtung während des Ablaufs des Assays zu gestatten.

Insbesondere stellt die Vorrichtung eine Kassette oder ein Behältnis mit einer im wesentlichen horizontalen Drehachse dar, vorzugsweise einer im wesentlichen zentralen Drehachse, und umfaßt einen Reaktionskanal und ein Einlaßelement in offener Flußverbindung der Flüssigkeit mit dem Reaktionskanal zur Einführung einer Testprobe in den Reaktionskanal, vorzugsweise in der Form einer Einlaßöffnung. Der Reaktionskanal umfaßt mindestens eine Reagenszone, die mit einem Analysereagens beaufschlagt ist, vorzugsweise in dessen Trockenform, sowie Elemente zur Unterbrechung des durch Gravitation erfolgenden Flusses einer Flüssigmischung entlang des Reaktionskanals, was durch die hervorgerufene Bewegung ausreicht, um die in Kontakt damit geratene Flüssigmischung gründlich zu vermischen. In einer bevorzugten Ausgestaltung umfaßt die Vorrichtung ferner ein Element zur Einführung einer Testprobe durch das Einlaßelement in den Reaktionskanal, vorzugsweise in der Form einer Kapillarvorrichtung, die durch das Einlaßelement geführt werden kann und es dadurch verschließt. In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung umfaßt die Vorrichtung Flüssigkeitsabgabeelemente, die mit einem flüssigen Reagens beaufschlagt sind, das gehandhabt werden kann, um das flüssige Reagens in den Reaktionskanal während des Ablaufs der Durchführung eines Analyseassayverfahrens einzuführen. Vorzugsweise liegt das Flüssigkeitsabgabeelement in der Form eines Reservoirkörpers vor, der durch einen von außen handhabbaren, entfernbaren flüssigkeitsdichten Verschuß abgeschlossen ist. Die Flußunterbrechungselemente können entweder entlang des Reaktionskanals in genügendem Abstand von der Reagenszone angeordnet sein, so daß eine flüssige Mischung in der Reagenszone vorhanden sein kann, ohne gleichzeitig mit den Flußunterbrechungselementen in Kontakt zu stehen, oder die Flußunterbrechungselemente und die Reagenszone können hinreichend nahe zueinander angeordnet sein, so daß eine flüssige Mischung in dem Reaktionskanal in gleichzeitigem Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen und der Reagenszone stehen kann. Rasche Oszillation der Vorrichtung, so daß die Flüssigkeit darin in Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen steht, ergibt eine hinreichende Turbulenz in der Flüssigkeit, um dadurch die Flüssigkeit wirksam in Bewegung zu halten und zu vermischen. Vorzugsweise umfassen die Flußunterbrechungselemente Perimeter- und innere Wandteile des Reaktionskanals, die so ausgestaltet sind, daß der Flüssigkeitsstrom bei Kontakt der Flüssigkeit damit umgelenkt wird. In einer bevorzugten Ausgestaltung sind die Wandteile so angeordnet, daß eine oder mehrere Ecken im Reaktionskanal vorgesehen sind, die jeweils einen Winkel zwischen ca. 75° und ca. 105°, bevorzugter von ca. 90°, bilden, wobei die Ecken als geeignete Flußunterbrechungselemente dienen. Eine oder mehrere Ecken können auch als eine Sichtzone dienen, von der aus die nachweisbare Reaktion beobachtet und gemessen werden kann. Erfindungsgemäß kann eine flüssige Testmischung, die in den Reaktionskanal eingebracht wird, durch Schwerkraft entlang des Reaktionskanals zwischen einer oder mehreren Reagenszonen und den Flußunterbrechungselementen transportiert werden, indem die Vorrichtung relativ langsam um die Horizontalachse gedreht wird. Wenn demgemäß eine flüssige Testmischung einmal in der Vorrichtung gebildet worden ist, kann ein Analyseassayverfahren, das die Bewegung und Vermischung der flüssigen Testmischung mit den Analysereagenzien einschließt, durch einfaches Rotieren und Oszillieren der Vorrichtung ausgeführt werden, und zwar ohne die Notwendigkeit zusätzlichen Pipettierens, Zentrifugierens oder anderweitig komplizierter Handhabungsstufen, um die flüssige Testmischung von einem Analysereagens zum anderen oder beispielsweise zu einer Küvette zum Nachweis und der Messung der Nachweisreaktion zu transferieren.

Ein Analyseassayverfahren unter Verwendung der Vorrichtung der vorliegenden Erfindung wird im allgemeinen durch Einführung einer Testprobe in den Reaktionskanal durch das Einlaßelement durchgeführt. Es wird eine flüssige Testmischung gebildet und mit dem Analysereagens, mit dem die Reagenszone beaufschlagt ist, in Kontakt gebracht, und zwar vorzugsweise durch Rotation der Vorrichtung um die Horizontalachse, wodurch die flüssige Testmischung durch Schwerkraft entlang des Reaktionskanals zur Reagenszone transportiert wird, um eine weitere flüssige Mischung mit dem darin inkorporierten Analysereagens zu bilden. Bei Bildung der flüssigen Mischung oder im Anschluß daran wird die Vorrichtung um die Horizontalachse oszilliert, so daß die flüssige Mischung bei Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen in Bewegung versetzt wird, um dadurch die flüssige Mischung, wie oben beschrieben, zu vermischen. Die Nachweisreaktion wird danach in der flüssigen Mischung gemessen.

Gemäß einer bevorzugten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung umfaßt der Reaktionskanal zusätzliche Reagenszonen, die mit einem oder mehreren zusätzlichen Analyseereagenzien beaufschlagt sind, welche in fließender Berührung der Flüssigkeit entlang des Reaktionskanals angeordnet sind, und ein flüssiges Reagens ist in einem zentral angeordneten Flüssigkeitsabgabeelement, wie oben beschrieben, enthalten. Ein Analyseassayverfahren wird durch Einführung einer Testprobe in den Reaktionskanal und Einführung des flüssigen Reagens in den Reaktionskanal ausgeführt. Es soll klargestellt sein, daß, abhängig von dem besonderen Assayprotokoll, das flüssige Reagens mit der Testprobe vor dem Zusammenbringen der flüssigen Testprobe mit einem oder mehreren der Analyseereagenzien in den Reagenszonen oder im Anschluß daran beaufschlagt und vermischt werden kann. In beiden Fällen wird die Vorrichtung um die Horizontalachse weitergedreht, um dadurch zusätzliche Flüssigkeitsmischungen zu bilden, und die zusätzlichen Flüssigkeitsmischungen werden durch Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen, wie oben beschrieben, in Bewegung versetzt und vermischt. Wie nachfolgend detaillierter beschrieben wird, soll die Vorrichtung der vorliegenden Erfindung nicht auf die oben beschriebenen Analyseassayverfahren beschränkt sein, sondern sie kann verwendet werden, um im wesentlichen ein jedes sequentielles Analyseassayverfahren auszuführen, das eine Anzahl von Handhabungsstufen in einer gewünschten geordneten Abfolge und einer Vielzahl von Analyseassayreagenzien beinhaltet. Zudem erlaubt die offene Fließverbindung der Flüssigkeit entlang des Reaktionskanals die Messung einer oder mehrerer zusätzlicher Nachweisreaktionen durch die Rotation der Vorrichtung um die Horizontalachse, wodurch flüssige Testmischungen durch Schwerkraft entlang des Reaktionskanals zu einer oder mehreren Sichtzonen für Mehrfachmessungen während eines einzigen Assays transportiert werden können.

- Fig. 1: stellt eine Frontansicht einer beispielhaften Vorrichtung der vorliegenden Erfindung dar.
 Fig. 2: stellt eine Unteransicht der Vorrichtung von Fig. 1 dar.
 Fig. 3: stellt eine aufgefaltete Frontansicht einer bevorzugten Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung dar.
 Fig. 4: stellt eine Seitenansicht der Vorrichtung von Fig. 3 dar.
 Fig. 5a-5h: stellen eine Abfolge von Frontansichten der bevorzugten Vorrichtung von Fig. 3 und 4 dar, welche die Durchführung eines analytischen Testverfahrens unter Verwendung dieser Vorrichtung veranschaulichen.

Was nun die Fig. 1 und 2 betrifft, liegt die Vorrichtung 10 (Fig. 1) der vorliegenden Erfindung vorzugsweise in der Form einer im wesentlichen viereckigen Kassette oder eines Behältnisses mit einer im wesentlichen waagerechten Rotationsachse vor und umfaßt ein offenes Körperelement 11, das durch ein Deckelelement 12 (Fig. 2) abgeschlossen ist. Die äußeren Abmessungen der Kassette sind nicht kritisch, obwohl normalerweise die Kassette eine Höhe und Breite von ungefähr zwischen 3 cm und 15 cm und eine Dicke zwischen 0,25 cm und 2 cm aufweist. Eine besonders geeignete Kassette weist eine Höhe und Breite von ca. 6 cm und eine Dicke von ca. 1 cm auf. Das Körperelement 11 und das Deckelelement 12 sind vorzugsweise als getrennte Komponenten vorgesehen, um die Einbringung von einem oder mehreren Analyseereagenzien zu gestatten, wie nachfolgend detaillierter beschrieben wird, bevor die Kassette zusammengebaut wird. Sind die Analyseereagenzien in das Körperelement 11 eingebracht, wird das Körperelement 11 durch das Deckelelement 12 verschlossen, welches dann verklebt, mit Laser oder Ultraschall verschweißt oder anderweitig gemäß bekannter Verfahren dauerhaft fest verschlossen wird, um einen flüssigkeitsdichten Verschuß zu ergeben.

Das Körperelement 11 umfaßt eine Perimeterseitenwand 13 und erste und zweite Innenwände 14 bzw. 15, angeordnet an und im wesentlichen senkrecht zu einer äußeren Stützwand 16 aufgestellt. Die Seitenwand 13 und erste und zweite Innenwände 14 und 15 sind im wesentlichen gleich hoch, so daß, wenn das Körperelement 11 durch das Deckelelement 12 verschlossen ist, die Innenfläche 17 des Deckelelements 12 im wesentlichen auf den Oberkanten 18 und 19 der ersten und zweiten Innenwände 14 und 15, auf der Oberkante 20 der Seitenwand 13 ruht und dagegen in einer flüssigkeitsdichten Weise verschlossen ist. Die Seitenwand 13 bildet zusammen mit den anstoßenden Teilen des Deckelelements 12 und der äußeren Stützwand 16 einen Reaktionskanal 21, welcher sich um den Umkreis von Seitenwand 13 erstreckt und erste, zweite und dritte Ecken 22, 23 und 24 bildet, die erfindungsgemäß Elemente ergeben, um den Fluß einer flüssigen Mischung durch die in Kontakt mit ihnen hervorgerufene Bewegung zu unterbrechen, und welcher zudem auch als eine Sichtzone (oder Zonen) für Nachweis und Messung der durch eine flüssige Reaktionsmischung hervorgerufenen Nachweisreaktion dient. Eine Einlaßöffnung 25 ist in der Seitenwand 13 am nächstgelegenen Ende des Reaktionskanals 21 zur Einführung einer Testprobe in den Reaktionskanal 21 angeordnet, wie mit einer Pipette oder dgl. Vorzugsweise wird die Einlaßöffnung 25 im Anschluß an die Einführung einer Testprobe in die Vorrichtung 10 zugestöpselt, zugestopft oder anderweitig verschlossen, um Flüssigkeitsverluste zu verhindern, wenn die Vorrichtung 10 während und nach Ablauf eines Assays gehandhabt wird.

Erfindungsgemäß können ein oder mehrere Analyseereagenzien in entlang des Reaktionskanals 21 angeordnete Reagenszonen eingebracht werden, vorzugsweise in trockener Form, und zwar entweder im Bereich nahe an oder im allgemeinen zwischen den Ecken 22, 23 und 24. In beiden Fällen kann eine in den Reaktionskanal 21 eingebrachte Flüssigkeit durch die Schwerkraft entlang des Reaktionskanals 21 und zwischen den Ecken 22, 23 und 24 frei transportiert werden, indem die Vorrichtung 10 um die Horizontalachse rotiert wird. Zusätzlich zur Einbringung eines oder mehrerer Analyseereagenzien in die Reagenszone entlang des Reaktionskanals 21 beinhaltet die Vorrichtung 10 ferner ein Flüssigkeitsabgabereservoir 30, ausgestattet, um einen Puffer und/oder flüssiges Reagens zur Durchführung eines Analyseassayverfahrens, vorzugsweise zwischen ca. 0,25 ml und ca. 10 ml, bevorzugter zwischen ca. 0,4 ml und ca. 1,0 ml, aufzunehmen. Das Flüssigkeitsreservoir 30 umfaßt einen Reservoirkörper 31, der durch einen Verschuß oder eine Membran 32 in einer flüssigkeitsdichten Weise verschlossen ist. Die Membran 32 kann aus einer Vielzahl von Materialien ausgewählt sein, vorzugsweise aus im wesentlichen manipulierbaren und flexiblen Materialien, die dazu befähigt sind, den Reservoirkörper 31 in einer flüssigkeitsdichten Weise zu verschließen, wie mit bekannten Klebstoffen, die einen flüssigkeitsdichten Verschuß liefern, und leicht entfernt werden können, wodurch das flüssige Reagens aus dem Reservoirkörper 31 und in den Reaktionskanal 21 abwärts frei ausfließt. Wie nachfolgend detaillierter beschrieben wird, wird das periphere Ende 33 von Membran 32 beispielsweise in einer Richtung weg von der Vorrichtung 10 gezogen, um die Membran 32 vom Reservoirkörper 31 zu entfernen oder abzuziehen und dadurch das im Reservoirkörper 31 enthaltene flüssige Reagens in den Reaktionskanal 21 einzulassen. Es sollte selbstverständlich klar sein, daß andere im Stand der Technik bekannte Vorrichtungen in die Vorrichtung 10 aufgenommen werden können, um als Flüssigkeitsabgabesystem zur Einführung eines flüssigen Reagens, wie oben beschrieben, zu dienen. Beispielsweise kann eine Vorrichtung, ähnlich einer Spritze (nicht gezeigt),

umfassend einen röhrenförmigen Körper, der ein flüssiges Reagens und einen verschiebbaren Kolben enthält, stattdessen in Vorrichtung 10 enthalten sein, und der Kolben wird bedient, um das flüssige Reagens bei Bedarf in den Reaktionskanal 21 hinauszudrücken.

Gemäß der vorliegenden Erfindung, wie sie hier beschrieben wird, beruht die Betriebsweise von Vorrichtung 10 auf dem im wesentlichen freien und nicht-kapillaren Schwerkraftfluß einer Flüssigkeit entlang Reaktionskanal 21. Wie der Fachmann verstehen wird, kann ein solcher freier Schwerkraftfluß im wesentlichen durch die Oberflächenspannung, Lufttaschen und andere physikalische Phänomene behindert werden, welche häufig auftreten, wenn eine Flüssigkeit im wesentlichen Kontakt mit einer oder mehreren festen Oberflächen steht oder z. B. in eine kapillare Leitung, Röhre oder dgl. eingebracht wird. Demzufolge wird ein solcher freier Schwerkraftfluß einer Flüssigkeit in Vorrichtung 10 von den offenen inneren Dimensionen von Reaktionskanal 21 als auch des relativen Volumens der darin eingebrachten Flüssigkeit abhängen. Diese internen Dimensionen von Vorrichtung 10 werden normalerweise hinreichend bemessen sein, um die Flüssigkeit aufzunehmen und gleichzeitig frei laufen zu lassen, wenn sie in der Vorrichtung 10 gehandhabt wird. Obwohl die Abmessungen von Vorrichtung 10 vorzugsweise im wesentlichen bemessen sind, wie in den Zeichnungen gezeigt und oben beschrieben, kann ein Fachmann in Würdigung der vorstehenden Erwägungen die Abmessungen von Vorrichtung 10 abändern oder für den freien Schwerkraftfluß einer darin eingebrachten Flüssigkeit anderweitig ausgestalten. Beispielsweise kann die Vorrichtung 10 Luftzüge oder Öffnungen beinhalten, um das Entweichen von Luft aus der Vorrichtung 10 zu gestatten, sobald eine Flüssigkeit darin gehandhabt wird, um dadurch die Bildung von Lufttaschen oder das Auftreten anderer physikalischer Phänomene zu verhindern, die andernfalls den freien Schwerkraftfluß einer Flüssigkeit behindern würden. Diese Abzüge oder Öffnungen sind natürlich in einem Bereich oder Bereichen von Vorrichtung 10 so angeordnet oder in sonstiger Weise gestaltet, daß das Entweichen von Flüssigkeit aus der Vorrichtung 10 verhindert wird.

Um den freien Schwerkraftfluß einer Flüssigkeit oder von Reaktionsmischungen davon zu gewährleisten, ist es bevorzugt, daß das entsprechende Volumen kleiner ist als dasjenige Volumen, das im wesentlichen den Bereich der Fließbewegung der Flüssigkeit zwischen den oberen und unteren, oder angrenzenden, Wänden besetzt oder ausfüllt, wie z. B. den Bereich zwischen Perimeterwand 13 und ersten und zweiten Innenwänden 14 und 15. Vorzugsweise kann das Gesamtvolumen von im Reaktionskanal 21 vorhandener Flüssigkeit zwischen ca. 0,25 ml und ca. 10 ml, bevorzugter zwischen ca. 0,4 ml und ca. 1,0 ml, liegen, um durch die Schwerkraft in Vorrichtung 10 gemäß den Lehren der vorliegenden Erfindung frei transportiert zu werden. Zudem können die Oberflächen von Vorrichtung 10 gemäß im Stand der Technik bekannter Verfahren behandelt werden, um ein benetzbares oder hydrophile Oberfläche bereitzustellen, um den freien Fluß einer Flüssigkeit entlang der Oberflächen zu gestatten und im wesentlichen das Auftreten von Oberflächenspannungen oder anderer physikalischer Phänomene während eines Assayverfahrens zu verhindern. Solche Oberflächenbehandlungen schließen, jedoch nicht darauf eingeschränkt, Plasmabehandlungen, wie Plasmaätzen und Plasmapolymerisation, Koronarentladung, chemische Naßbehandlung und Überzugsverfahren, wie sie im Stand der Technik bekannt sind, und dgl. ein.

Zum Zwecke der Bewegung der flüssigen Mischung in der Kassette von einer Position oder Station zur anderen, z. B. von einer Reagenszone zur anderen oder von einer Reagenszone zu einer Misch- oder Sichtzone, wird die Vorrichtung 10 normalerweise um die Horizontalachse mit einer Geschwindigkeit rotiert, die hinreichend langsam ist, so daß sich der Transport einer Flüssigkeit entlang Reaktionskanal 21 im wesentlichen nicht-zentrifugal und im wesentlichen nur auf Grund von Gravitationskräften vollzieht. Während die Rotation der Kassette auch Rotationen bis 360° oder sogar mehrfache Umdrehungen der Vorrichtung einschließen kann, wird die Vorrichtung 10 normalerweise über im wesentlichen kurze Entfernungen oder Abstände rotiert, und zwar in einer Weise, daß die Bewegung einer Flüssigkeit oder von Mischungen davon, welche in die Vorrichtung eingebracht werden, das Ergebnis der auf die Flüssigkeit ausgeübten Gravitationskräfte ist. Beispielsweise gehen die nicht-zentrifugalen Rotationen, die ins Auge zu fassen sind, um die flüssige Mischung von einem Ort zum anderen in der Vorrichtung zu bewegen, normalerweise über Rotationsbögen größer als ca. 25°, häufiger größer als ca. 45°. Demgemäß wird die Gravitationsbewegung einer Flüssigkeit oder von Mischungen davon in der Vorrichtung 10 durch die nicht-zentrifugale Rotation von Vorrichtung 10 bewerkstelligt und soll nicht durch Zentrifugalkräfte bewerkstelligt sein, welche wesentlich größer als die auf die Flüssigkeit ausgeübte Gravitationskraft wären. Zur Bewerkstelligung von Flüssigkeitsbewegungen wird Vorrichtung 10 im allgemeinen um die Horizontalachse mit einer Spitzengeschwindigkeit zwischen ca. 1 Umdrehung pro Minute (U. p. m.) und ca. 60 U. p. m., bevorzugter zwischen ca. 15 U. p. m. und ca. 40 U. p. m., gedreht. Eine solche nicht-zentrifugale Umdrehungsgeschwindigkeit hängt natürlich von der Größe von Vorrichtung 10 ab und kann durch einen Fachmann in Würdigung der vorstehenden Erwägungen festgelegt werden.

Andererseits beinhalten die angewandten Oszillatoren zur Vermischung der flüssigen Mischung in Kontakt mit den Flußunterbrechungselementen, z. B. den Ecken 22, 23 oder 24, im allgemeinen Umdrehungsgeschwindigkeiten über eine kurze Entfernung, die über 10 U. p. m. hinausgehen.

Vorzugsweise beträgt die Maximalgeschwindigkeit einer Rotation, die im Mittelkreis einer Oszillation für diesen Zweck erreicht wird, zwischen ca. 15 U. p. m. und ca. 40 U. p. m. Während solche Geschwindigkeiten, falls sie über beachtlich längere Rotationsbögen ausgeübt werden, z. B. über volle Umdrehungen, zu einer beachtlichen Zentrifugalkraft führen könnten, die auf die flüssige Mischung angewandt wird, wie oben beschrieben, werden solche Oszillatoren über einen ziemlich engen Bewegungsbereich aufrechterhalten, so daß jegliche Zentrifugalkräfte lediglich zur Vermischungswirkung, die an den Flußunterbrechungselementen hervorgerufen wird, beitragen.

Es sollte klar sein, daß die Konfiguration des Reaktionskanals 21 nicht auf das vorstehend Beschriebene eingeschränkt sein soll, und daß zusätzliche Ecken oder andere Konfigurationen entlang des Reaktionskanals 21 vorgesehen sein können, um als Flußunterbrechungselemente zu dienen oder zusätzliche Reagenszonen oder -bereiche in Übereinstimmung mit den Lehren der vorliegenden Erfindung bereitzustellen. Demnach wird nun eine besonders bevorzugte Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung und deren Anwendung zur Durchführung eines sequentiellen Analyseassayverfahrens beschrieben, um ein noch besseres Verständnis der vorliegenden Erfindung darzulegen.

Was Fig. 3 bis 5 betrifft, werden eine Kassette 40 und ein Kapillarhalter 41 zur Einführung einer vorbestimmten Menge einer flüssigen Testprobe in die Vorrichtung 40 gezeigt. Typisch Abmessungen einer solchen Vorrichtung sind dieselben wie vorstehend bezüglich der Vorrichtung von Fig. 1 und 2 beschrieben. Vorrichtung 40 umfaßt ein Körperelement 42, das durch ein Deckelelement 43 in einer flüssigkeitsdichten Weise, wie vorher beschrieben, verschlossen ist. Das Körperelement 42 umfaßt

ein
ein
unc
Dec
Inn
sov
zwe
dur
drit
Vor
entf
bezi
die
Seit
Mes
Der
treff
Kap
schv
Es s
Anw
Kolt
Ass
Die f
Anal
vorz
vor
Bind
eine
Alte
Mate
eine
natü
wer
Reag
am g
es be
Seite
gleich
Eine
Mesa
Reak
beso
trock
Ober
und c
Mesa
diskre
Analy
vorbe
demg
Was r
und V
53,54
verde
Vorr
und d
Vorr
Es sol
Inkorp
nicht
Assay
Assay
Durch
außerl
Es wir
erörte
in den

eine Perimeterseitenwand 44 und erste und zweite Innenwände 45 bzw. 46, angeordnet und im wesentlichen senkrecht zu einer äußeren Stützwand 47 aufgestellt, und ein Flüssigkeitsabgabereservoir 30, wie oben beschrieben, ist zwischen den ersten und zweiten Innenwänden 45 und 46 angeordnet. Die Seitenwand 44 bildet zusammen mit den angrenzenden Teilen des Deckelelements 43 und der Stützwand 47 einen Analysereaktionskanal 49, wovon ein Teil U-förmig ist und durch eine dritte Innenwand 50 gebildet wird, die sich zwischen und im wesentlichen senkrecht zur zweiten Innenwand 46 und Seitenwand 44 sowie einer vierten Innenwand 51 erstreckt, welche sich wiederum von der zweiten Innenwand 46 erstreckt. Die ersten und zweiten Ecken 52 und 53 werden durch die Seitenwand 44 entlang des Reaktionskanals 49 gebildet. Eine dritte Ecke 54 wird durch Seitenwand 44 und die dritte Innenwand 50 gebildet, und eine vierte Ecke 55 wird durch die und zwischen den zweiten, dritten und vierten Innenwänden 46, 50 bzw. 51 gebildet. Es sollte klar sein, daß ein abgeschlossener Bereich 56 der Vorrichtung 40 nicht-funktional ist, aber es könnten gewünschtenfalls die dritte Innenwand 50 und die vierte Innenwand 51 entfernt, abgeändert oder anderweitig umgestaltet werden, um den Reaktionskanal 49 in den als abgeschlossenen Bereich 56 bezeichneten Teil sich weiter erstrecken zu lassen. Die zweite Ecke 53 dient als Sichtzone zur Messung von Nachweisreaktionen, die durch die Reaktionen verschiedener Reagenzien mit der Testprobe hervorgerufen werden können. Deckelteil 43 und Seitenwand 44 sind mit einem im wesentlichen durchsichtigen Kuvettenfenster 57 in Ecke 53 ausgebildet, um die genaue Messung von Nachweissignalen zu gestatten, wie Absorption oder Trübung. Der Kapillarhalter 41 umfaßt ein peripheres Ende 58, das ausgestaltet ist, um sich mit der Einlaßöffnung 59 in Seitenwand 44 zu treffen, sowie ein nächstgelegenes Ende, das ein kapilläres Probenrohr 60 einschließt. Die Flüssigkeitskapazität von Kapillarrohr 60 hängt vom besonderen Analyseassayverfahren ab, das in der Vorrichtung 40 durchgeführt werden soll und schwankt demgemäß in der Größe, um eine vorbestimmte Menge einer flüssigen Testprobe in die Vorrichtung 40 einzubringen. Es sollte natürlich klar sein, daß auch andere Elemente zur Einbringung einer flüssigen Testprobe in die Vorrichtung 40 Anwendung finden können, wie durch eine Pipette oder dgl., worin die Einlaßöffnung 59 auf ähnliche Weise mit z. B. einem Kolbenelement (nicht gezeigt) oder anderen Elementen verschlossen werden kann, um Flüssigkeitsverlust während eines Assays zu verhindern.

Die Reagenszonen 61, 62 und 63 sind in den ersten, dritten und vierten Ecken 52, 54 bzw. 55 angeordnet und werden mit Analyse-reagenzien zur Durchführung eines besonderen Analyseassayverfahrens beaufschlagt. Die Analyse-reagenzien liegen vorzugsweise in den Reagenszonen in einer im wesentlichen trockenen, wasserlöslichen, suspendierbaren oder löslichen Form vor und können entlang des Reaktionskanals 49 gemäß bekannter Verfahren eingelagert werden, wie durch ein nicht-kovalentes Bindungsverfahren, Absorptionsverfahren und dgl., und zwar in der gewünschten Reihenfolge, in welcher sie sequentiell mit einer flüssigen Testprobe zusammengebracht werden sollen.

Alternativ dazu kann eine Reagensunterlage, die z. B. ein absorbierendes Material, wie einen gewebten Stoff, ein saugfähiges Material und dgl., oder einen Reagensfilm umfaßt, mit einem Analyse-reagens gemäß bekannter Verfahren beaufschlagt und an einer Oberfläche des Reaktionskanals 49 befestigt werden, welche mit einer Flüssigkeit in Kontakt gebracht wird. Es sollte natürlich klar sein, daß diese Analyse-reagenzien auf oder an eine jede Oberfläche entlang des Reaktionskanals 49 eingelagert werden können, welche mit einer darin eingebrachten Flüssigkeit in Kontakt gebracht werden. Beispielsweise können die Reagenszonen auf einer Oberfläche von Seitenwand 44, Außenwand 47 oder einer inneren Oberfläche von Deckelelement 43 am gewünschten Ort einer jeweiligen Reagenszone entlang Reaktionskanal 49 angeordnet sein. In einigen Anwendungen wird es bevorzugt sein, die Reagenszone 63 auf der inneren Oberfläche von Deckelelement 43 gegenüber der Reagenszone 62 auf Seitenwand 44 anzubringen. Eine solche Anordnung der Reagenszone 62 und 63 ermöglicht einen im wesentlichen gleichzeitigen Kontakt der eingebrachten Reagenzien mit einer entlang Reaktionskanal 49 transportierten flüssigen Mischung. Eine besonders vorteilhafte Reagenszone liegt in der Form eines im wesentlichen flachen, erhöhten Teilbereichs oder eines Mesa-geformten Knotenbereichs auf der Oberfläche eines ausgewählten Bereichs der Vorrichtung 40 entlang des Reaktionskanals 49 vor. Ein Analyse-reagens kann in eine solche Zone eingebracht werden, indem man eine flüssige Form des besonderen Analyse-reagens auf das Mesa aufbringt und den Flüssigkeitsanteil des Reagens verdampfen läßt, um dadurch eine trockene Form des Analyse-reagens abzuschneiden. Das Volumen der flüssigen Form des Analyse-reagens hängt natürlich von der Oberflächenfläche des Mesa ab und liegt vorzugsweise zwischen ca. 0,002 ml und ca. 0,1 ml, bevorzugter zwischen ca. 0,005 ml und ca. 0,015 ml. Wie der Fachmann verstehen wird, hindert die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit, die auf einem solchen Mesa abgeschieden ist, die Flüssigkeit daran, sich auf angrenzende Oberflächen auszubreiten, und liefert dadurch einen diskreten oder örtlich festgelegten Bereich, um als Reagenszone zu dienen. Die Verwendung eines Mesa zur Einlagerung eines Analyse-reagens ist besonders praktisch während der Herstellverfahren, da die Vorrichtung 40 mit einem oder mehreren Mesa an vorbestimmten Orten, die als Reagenszonen dienen können, leicht geformt oder sonstwie hergestellt werden kann und demgemäß eine leichte und bequeme Einlagerung von Analyse-reagenzien vor dem Zusammenbau von Vorrichtung 40 zuläßt. Was nun die Fig. 5(a) bis 5(h) betrifft, wird Vorrichtung 40 in verschiedenen Rotationspositionen gezeigt, um Schwerkraftfluß und Vermischung einer flüssigen Mischung entlang des Reaktionskanals 49 sowie deren sequentiellen Kontakt mit den Ecken 52, 53, 54 und 55 und den entlang Reaktionskanal 49 in die Reagenszonen 61, 62 und 63 eingebrachten Analyse-reagenzien weiter zu verdeutlichen, wenn die Vorrichtung 40 um die Horizontalachse, wie oben beschrieben, gedreht wird. Die außerhalb Vorrichtung 40 dargestellten durchgezogenen Pfeile zeigen die Rotationsrichtung von Vorrichtung 40 um ihre Horizontalachse und die innerhalb Vorrichtung 40 dargestellten gestrichelten Pfeile zeigen die Fließrichtung der Flüssigkeit an, wenn Vorrichtung 40 um ihre Horizontalachse in Richtung der durchgezogenen Pfeile rotiert wird.

Es sollte klar sein, daß die Fig. 5(a) bis 5(h) lediglich dem Zwecke der Verdeutlichung dienen und Anzahl, Natur oder Art der Inkorporation von Analyse-reagenzien in die Vorrichtung 40 oder die Abfolge oder die Richtung der Rotation von Vorrichtung 40 nicht einschränken sollen. Obwohl beispielsweise drei Reagenszonen 61, 62 und 63 gezeigt sind, können auch andere Assayabläufe in Vorrichtung 40 durchgeführt werden, wobei die Anzahl der Analyse-reagenzien natürlich von den besonderen Assayerfordernissen abhängt. Ferner kann die Vorrichtung weniger als die erforderliche Anzahl von Analyse-reagenzien zur Durchführung eines Analyseassayverfahrens beinhalten, wobei eine oder mehrere Reaktionsmischungen davon zuerst außerhalb der Vorrichtung gebildet und dann in die Vorrichtung eingeführt werden können, um den Assay zu vervollständigen. Es wird nun ein beispielhaftes Verfahren zur Verwendung der in Fig. 3 bis 5 dargestellten Vorrichtung beschrieben. Wie hier erörtert wird, können die verschiedenen Rotations- und Oszillationsbewegungen der Vorrichtung manuell durchgeführt werden, in den meisten Fällen werden sie jedoch mittels eines geeigneten Instruments oder Apparats vorzugsweise durchgeführt.

Normalerweise besteht die erste Stufe bei der Ausführung eines Tests darin, eine Vorrichtung 40 in einem Haltermechanismus in einem solchen Instrument anzubringen, wobei die Vorrichtung 40 mit der Ecke 53 nach unten positioniert ist (Fig. 5(a)). Dann wird eine flüssige Testprobe, wie eine biologische Flüssigkeit, in das Kapillarrohr 60 gezogen, und der Kapillarhalter 41 wird in die positionierte Vorrichtung 40 durch eine Öffnung 59 eingebracht, wobei das Kapillarrohr 60 in einem zur ersten Ecke 52 im wesentlichen nächstgelegenen Bereich angeordnet wird und das periphere Ende 58 von Kapillarhalter 41 die Öffnung 59 abschließt. Ein unterer Bereich 64 von Seitenwand 44 im Bereich der ersten Ecke 53 ist vorzugsweise wie gezeigt konfiguriert, so daß, wenn das Kapillarrohr 60 wie oben beschrieben positioniert ist, das Kapillarrohr 60 befähigt ist, mit einer Flüssigkeit in Reaktionskanal 49, wie einem flüssigen Reagens, das aus dem Flüssigkeitsabgabereservoir 30 in Reaktionskanal 49 eingebracht wird, wirksam in Kontakt gebracht zu werden. Ein flüssiges Reagens 70, das im Flüssigkeitsabgabereservoir 30 enthalten ist, wird in Reaktionskanal 49 eingeführt, indem man das periphere Ende 33 in einer Richtung weg von Vorrichtung 40 abzieht, wie durch den ausgezogenen Pfeil in Fig. 5(a) gezeigt. Das flüssige Reagens 70 fließt durch die Schwerkraft in freiem Fluß entlang des durch den gestrichelten Pfeil in Fig. 5(a) gezeigten Weges in Ecke 53 von Reaktionskanal 49. Eine Leerproben-Absorptionsmessung kann durch Küvettenfenster 57 an der Startposition mit abwärts gerichteter Ecke 53 durchgeführt werden. Die Vorrichtung 40 (Fig. 5(b)) wird dann in einer Richtung entgegen dem Uhrzeigersinn (Pfeil A) rotiert und oszilliert (Pfeil B), wodurch das flüssige Reagens 70 durch die Schwerkraft entlang Reaktionskanal 49 transportiert und mit der ersten Ecke 52, der Reagenszone 61 und dem kapillaren Probenrohr in Kontakt gebracht wird. Es sollte klar sein, daß erfindungsgemäß die Turbulenz, die durch das flüssige Reagens 70 hervorgerufen wird, welches während der Oszillation der Vorrichtung 40 mit der ersten Ecke 52 zusammenstößt, sowohl zum Austritt der flüssigen Testprobe aus Kapillare 60 als auch zur Auflösung des ersten Analysereagens in Reagenszone 61 führt, um dabei eine erste Reaktionsmischung 71 zu bilden, wie oben beschrieben. Gewünschtenfalls kann Vorrichtung 40 zusätzlich in alternierenden Richtungen im und gegen den Uhrzeigersinn (Fig. 5(c) und 5(d)) rotiert werden, wobei eine erste Reaktionsmischung 71 durch Schwerkraft entlang Reaktionskanal 49 zwischen ersten und zweiten Ecken 52 und 53 transportiert wird, wodurch die erste Reaktionsmischung 71 weiter in Bewegung versetzt und vermischt wird, um vollständige Auflösung oder Suspendierung des ersten Analysereagens zu gewährleisten. Zudem kann Vorrichtung 40 in einer stationären Position über eine bestimmte Zeitdauer gehalten werden, um den Analyt in der ersten Reaktionsmischung 71 in hinreichendem Maße mit den Analysereagenzien wechselwirken zu lassen.

Wenn die erste Reaktionsmischung 71 eine erste Nachweisreaktion oder meßbare Charakteristik liefert, welche gemäß eines besonderen Assayprotokolls gemessen werden sollen oder gewünschtenfalls gemessen werden, wird Vorrichtung 40 im Uhrzeigersinn rotiert, so daß die erste Reaktionsmischung 71 durch Schwerkraft zum Küvettenfenster in der zweiten Ecke 53 transportiert wird, und die Vorrichtung wird in einer stationären Position gehalten (Fig. 5(e)). Eine jede solche erste Nachweisreaktion, bereitet durch die erste Reaktionsmischung 71, kann dann gemessen und die restlichen Assaystufen im Anschluß daran ausgeführt werden. Beispielsweise kann eine solche erste Nachweisreaktion eine Gesamthämoglobinmessung sein, wobei die flüssige Testprobe eine Gesamtblutprobe ist, wie bei der Durchführung eines Assays zur Bestimmung des Prozentsatzes von glyciertem Hämoglobin in einer Gesamtblutprobe, wie nachfolgend detaillierter beschrieben wird. Wenn die erste Nachweisreaktion in der zweiten Ecke 53 nachgewiesen und gemessen ist, wird Vorrichtung 40 im Uhrzeigersinn gedreht und die erste Reaktionsmischung 71 durch Schwerkraft aus der zweiten Ecke 53 zur Reagenszone 62 in der dritten Ecke 54 transportiert und mit dem in Reagenszone 62 eingebrachten Analysereagens in Kontakt gebracht, um eine zweite Reaktionsmischung 72 damit zu bilden (Fig. 5(f)), und Vorrichtung 40 wird gewünschtenfalls in einer stationären Position gehalten, um die zweite Reaktionsmischung 72 zu inkubieren, wie oben beschrieben.

Vorzugsweise wird Vorrichtung 40 oszilliert, um vollständige Auflösung oder Suspendierung des Analysereagens in Reagenszone 62 zu gewährleisten, und sie kann gewünschtenfalls in wechselnden Richtungen zusätzlich rotiert werden, um die zweite Reaktionsmischung 72 durch Schwerkraft entlang Reaktionskanal 49 zwischen und in Kontakt mit den Ecken 52, 53 und 54 zu transportieren, um die zweite Reaktionsmischung 72 weiter zu vermischen und in Bewegung zu halten. Es sollte natürlich klar sein, daß, wenn eine erste Nachweisreaktion nicht vorgesehen oder deren Messung nicht notwendig oder erwünscht ist, wie oben beschrieben, kann die erste Reaktionsmischung 71 stattdessen durch Schwerkraft entlang dem Reaktionskanal 49 zur dritten Ecke 54 durch Rotation der Vorrichtung 40 entgegen dem Uhrzeigersinn direkt transportiert werden. Desgleichen wird die zweite Reaktionsmischung 72 in Kontakt mit der vierten Ecke 55 und der Reagenszone 63 gebracht, indem man Vorrichtung 40 im Uhrzeigersinn rotieren läßt und Vorrichtung 40 oszillieren läßt, wie oben beschrieben, um eine dritte Reaktionsmischung 73 mit dem in Reagenszone 63 eingebrachten Analysereagens zu bilden, und gewünschtenfalls wird Vorrichtung 40 in einer stationären Position gehalten, um die dritte Reaktionsmischung 73 zu inkubieren, wie oben beschrieben. Typischerweise wird die Endreaktionsmischung in einem Analyseassayverfahren, in diesem Fall die dritte Reaktionsmischung 73, eine nachweisbare Reaktion liefern, die gemessen und mit der Menge an Analyt in der flüssigen Testprobe korreliert wird, oder, wenn eine erste nachweisbare Reaktion vorgesehen ist, wie oben beschrieben, wird sie gemessen und mit der ersten Nachweisreaktion als eine Funktion des Analyt verglichen. In beiden Fällen wird die Reaktionsmischung 73 durch Schwerkraft entlang Reaktionskanal 49 zur zweiten Ecke 53 transportiert, indem die Vorrichtung 40 entgegen dem Uhrzeigersinn (Fig. 5(h)) rotiert wird, und die dadurch hervorgerufene Nachweisreaktion wird gemessen. Die Vorrichtung 40 kann ganz allgemein zur Durchführung turbidimetrischer und nephelometrischer Assays verwendet werden, welche im Stand der Technik bekannt sind, um Analyte von Interesse in einer Vielzahl von Testproben, insbesondere in biologischen Flüssigkeiten, wie einer Gesamtblutprobe, Serum, Plasma, Urin, Speichel, einer cerebrospinalen Flüssigkeit und dgl., zu bestimmen. Beispielsweise können Agglutinationsimmunoassays und Agglutinationsinhibitionsassays durchgeführt werden, wobei die Analysereagenzien davon in den Reaktionskanal 49 in der gewünschten Reihenfolge eingebracht werden, um mit einer flüssigen Testprobe und flüssigen Reaktionsmischungen davon in Kontakt gebracht zu werden.

Insbesondere eignet sich die Vorrichtung 40 gemäß der vorliegenden Erfindung zur Durchführung eines immunoturbidimetrischen Assays zur Bestimmung von Hämoglobin A1c (HbA1c), einem glycierten Hämoglobinderivat. Gemäß eines solchen Assays wird Hämoglobin in einer Gesamtblutprobe in eine denaturierte Thiocyan-met-Hämoglobin-Form überführt, die als die Basis zur ersten Messung von Gesamthämoglobin dient, und dann wird die denaturierte HbA1c-F

durch Immunoassay gemessen. Der Immunoassay beruht auf der spezifischen Wechselwirkung eines Antikörper-Teilchenreagens und eines Agglutinatorreagens, wie in den US-Patentanmeldungsnummern 118,469, 118,476 und 118,566 vom 09. 11. 1987 beschrieben.

Das Antikörper-Partikelreagens umfaßt einen Antikörper oder ein Fragment davon, spezifisch für die glycierte N-terminale Peptidsequenz in der beta-Untereinheit des denaturierten Hämoglobins, welcher an in Wasser suspendierbare Partikel (z. B. ein Polystyrol oder einen anderen Latex) gebunden ist. Geeignete Latexpartikel sind dem auf dem Gebiet von Latexagglutinationsimmunoassays tätigen Durchschnittsfachmann bekannt. Im allgemeinen sind für diese Partikel Eigenschaften erforderlich, die notwendig sind, um als eine stabile Unterlage für das gewünschte Antikörperreagens für den Assay zu dienen und in der Gegenwart eines Agglutinatorreagens hinreichend für analytische Zwecke zu agglutinieren. Die Latex-Partikel werden im allgemeinen durch Emulsions- oder Suspensionspolymerisation hergestellt (Bangs, L. G. [1984] Uniform Latex Particles, Seragen Diagnostics Inc., Indianapolis, IN, USA). Schwellungsemulsionspolymerisation kann ebenfalls angewandt werden (Ugelstad, J., et al. [1989] Adv. Colloid and Interface Sci. 13: 101-140). Eine gute Auswahl von Latexpartikeln ist kommerziell erhältlich. Polystyrolpartikel sind besonders geeignet.

Die Bindung des Antikörperreagens an die Latexpartikel ist eine Sache der Anwendung herkömmlicher Techniken. Im allgemeinen kann die Bindung kovalenter oder nicht-kovalenter Art sein. Das Antikörperreagens kann aus ganzen Antikörpern, Antikörperfragmenten, polyfunktionellen Antikörperaggregaten und dgl. bestehen. Normalerweise werden ganze Antikörper oder IgG-Fragmente, wie Fab, Fab' oder F(ab')₂, eingesetzt. Das Antikörperreagens kann von jeder verfügbaren Technik hergeleitet sein, wie den herkömmlichen Antiserum- und monoklonalen Verfahren.

Das Agglutinatorreagens umfaßt eine Vielzahl epitoper Bindungsstellen für das Antikörperreagens und kann gemäß auf dem Gebiet von Agglutinationsimmunoassays üblicher Verfahren hergestellt werden. Das Reagens enthält ganz allgemein eine Vielzahl epitoper Bindungsstellen für das Anti-Analyt-Antikörperreagens. Solche Stellen können durch den Einsatz des Analyt selbst oder eines geeigneten Analogons bereitgestellt werden, das hinreichende Kapazität enthält, um für die Zwecke eines Assays durch den Antikörper gebunden zu werden. Ein solches Analogon kann im Falle eines Protein-Analyt ein geeignetes Fragment umfassen, das synthetisch oder durch Abbau hergestellt wird, enthaltend das Epitop für das Antikörperreagens, z. B. für den glycierten Peptidrest von Hämoglobin Alc.

Die vorgenannten Reagenzien können in die Vorrichtung 40 eingebracht werden, so daß ein immunoturbidimetrischer Assay für HbAlc darin durchgeführt werden kann, und zwar im wesentlichen wie oben beschrieben und in Fig. 5(a) bis 5(h) dargestellt. Insbesondere kann die Reagenzzone 61 mit einer trockenen, löslichen Form eines Oxidans, wie Kaliumferricyanid, beaufschlagt sein, und eine flüssige Form eines Denaturierungsmittels 70, wie Lithiumthiocyanat, ist im Flüssigkeitsabgabereservoir 30 enthalten, welches zusammen mit dem Oxidans das native Hämoglobin in seine Thiocyan-met-Hämoglobin-Form überführt; die Reagenzzone 62 kann mit einer trockenen, suspendierbaren Form des Antikörper-Partikelreagens beaufschlagt sein; und Reagenzzone 63 kann mit einer trockenen, löslichen Form des Agglutinatorreagens beaufschlagt sein. Eine Gesamtblutprobe oder eine vorbehandelte Probe davon werden in die Kapillare 60 eingeführt, und der Kapillarhalter 41 wird durch Öffnung 59 in die Vorrichtung 40 eingebracht (Fig. 5(a)) und Membran 32 wird, wie oben beschrieben, gehandhabt, um das Denaturierungsmittel 70 in Reaktionskammer 49 einzuführen.

Die Vorrichtung 40 (Fig. 5(b)) wird zuerst entgegen dem Uhrzeigersinn rotiert, wobei das Denaturierungsmittel 70 durch die Schwerkraft entlang Reaktionskanal 49 transportiert und mit der ersten Ecke 52, dem in Reagenzzone 61 eingebrachten Oxidationsmittel und der Kapillare 60 in Kontakt gebracht wird, um eine erste Reaktionsmischung 71 mit der Blutprobe aus Kapillare 60 zu bilden. Vorzugsweise wird die Vorrichtung 40 oszilliert, wie oben beschrieben, und dann im Uhrzeigersinn rotiert, so daß die erste Reaktionsmischung durch die Schwerkraft zur zweiten Ecke 53 transportiert wird, und dann wird die Vorrichtung 40 in einer stationären Position gehalten (Fig. 5(e)). Die erste Reaktionsmischung 71 wird vorzugsweise inkubiert, während sie sich in der zweiten Ecke 53 für 3 bis 5 Minuten befindet, vorzugsweise zwischen ca. 25 und ca. 39°C, und der Gesamtgehalt an Hämoglobin wird durch Messung seiner Absorption, vorzugsweise bei ca. 530 nm ermittelt. Die Vorrichtung 40 wird dann im Uhrzeigersinn gedreht, um die erste Reaktionsmischung 71 durch Schwerkraft aus der zweiten Ecke 53 zur Reagenzzone 62 in der dritten Ecke 54 zu transportieren und mit dem in Reagenzzone 62 eingebrachten Antikörper-Partikelreagens in Kontakt zu bringen, um eine zweite Reaktionsmischung 72 damit zu bilden (Fig. 5(f)). Vorrichtung 40 wird in einer stationären Position gehalten, um die zweite Reaktionsmischung 72 zu inkubieren, wie oben beschrieben, und dann wird die zweite Reaktionsmischung 72 mit Reagenzzone 63 an der vierten Ecke 55 durch weitere Drehung der Vorrichtung 40 im Uhrzeigersinn in Kontakt gebracht und die Vorrichtung 40 wird oszilliert, wie oben beschrieben (Fig. 5(g)), um eine dritte Reaktionsmischung 73 mit dem in Reagenzzone 63 eingebrachten Agglutinatorreagens zu bilden. Es sollte klar sein, daß das Antikörper-Partikelreagens und das Agglutinatorreagens im Reaktionskanal 49 so angeordnet werden können, daß Antikörper-Partikelreagens und Agglutinatorreagens entweder nacheinander oder gleichzeitig in Kontakt gebracht werden.

Das Ausmaß, mit dem Antikörper-Partikel und Agglutinator aneinander gebunden werden, um einen lichtstreuenden Komplex zu bilden, ist abhängig von der Menge an vorhandenem HbAlc und wird durch turbidimetrische Messung rasch quantitativ bestimmt. Demgemäß erfolgt die HbAlc-Messung, indem die dritte Reaktionsmischung 73 durch Schwerkraft zur zweiten Ecke 53 durch Rotation von Vorrichtung 40 im Uhrzeigersinn transportiert wird (Fig. 5(h)). Die Trübung der dritten Reaktionsmischung 73 wird gemessen, wie oben beschrieben, und die Trübung der dritten Reaktionsmischung 73 und die Messung des Gesamthämoglobins aus der ersten Reaktionsmischung 71 werden mit dem Prozentsatz an glyciertem Hämoglobin in der gesamten Bluttestprobe korreliert.

Die Vorrichtung 40 ist auch zur Durchführung eines immunometrischen Assays geeignet, der die Bindung zwischen dem Analyt, einem markierten Reagens, enthaltend ein Anti-Analyt-Antikörperreagens, das mit einer nachweisbaren chemischen Gruppe markiert ist, und einer immobilisierten Form des Analyt oder eines bindenden Analogons davon beinhaltet. Gemäß eines solchen Assays wird die Menge des markierten Antikörperreagens, das an den Analyt aus der flüssigen Testprobe oder an denjenigen gebunden ist, welcher an die immobilisierte Form des Analyt gebunden ist, bestimmt und auf die Menge des in der Testprobe vorliegenden Analyt bezogen.

Die Antikörperkomponente des Antikörperreagens kann ein ganzer Antikörper, wie jede der Klassen und Unterklassen von bekannten Immunglobulinen, z. B. IgG, IgM und dgl., oder monovalente und divalente Antikörperfragmente von IgG, herkömmlicherweise bekannt als Fab und Fab' und F(ab')₂, oder bevorzugter ein monovalentes Antikörperfragment (Fab) der

Fab') sein. Divalente und monovalente IgG-Antikörperfragmente können gemäß bekannter Verfahren durch Anwendung von Standardverfahren eines proteolytischen Abbaus mit Pepsin oder Papain erhalten werden.

Die nachweisbare chemische Gruppe des markierten Reagens kann jedes Material mit einer nachweisbaren physikalischen oder chemischen Eigenschaft sein. Diese Materialien sind auf dem Gebiet von Immunoassays gut entwickelt, jedes in solchen Verfahren geeignete Markierungsmittel kann im allgemeinen bei diesen immunometrischen Assayverfahren angewandt werden. Beispielsweise sind solche chemischen Gruppen mit nachweisbaren physikalischen Eigenschaften jene Gruppen, die auf der Grundlage ihrer eigenen physikalischen Eigenschaften nachgewiesen werden, welche eine chemische Reaktion oder Wechselwirkung mit einer anderen Chemikalie oder Substanz nicht erforderlich machen, um ein nachweisbares Signal zu liefern, wie fluoreszierende, phosphoreszierende Moleküle, Chromophore, Radioisotope, Spinlabels oder elektroaktive Reste.

Chemische Gruppen mit nachweisbaren chemischen Eigenschaften sind jene Gruppen, die auf der Grundlage ihrer eigenen chemischen Reaktivität oder Wechselwirkung mit einer Nachweiskomponente dafür nachgewiesen werden, um ein nachweisbares Signal zu liefern. Diese chemischen Gruppen mit nachweisbaren Eigenschaften erzeugen vor der Wechselwirkung mit dieser Nachweiskomponente kein nachweisbares Produkt oder liefern sonst ein nachweisbares Signal und schließen enzymatisch aktive Gruppen ein, wie Enzyme, Enzymsubstrate, Coenzyme, Enzyminhibitoren und -aktivatoren, chemilumineszierende Species, chemische Katalysatoren, Metallkatalysatoren, Teile von Enzymkanalisierung, Fluorophor-Quencher oder Energietransferpaare und spezifisch bindbare Liganden, wie Biotin oder ein Hapten.

Die immobilisierte Form des Analyt oder seines bindenden Analogons können gemäß bekannter Verfahren auf einer Oberfläche des Reaktionskanals immobilisiert oder sonst gebunden sein, oder sie können als eine immobilisierte Form in eine Reagensunterlage oder -film, wie oben beschrieben, eingebracht sein. Alternativ dazu können der Analyt oder sein bindendes Analogon auf einem magnetisch reagierenden Reagenspartikel immobilisiert sein, das auf ein magnetisches Feld ohne resultierende permanente Magnetisierung reagiert, im allgemeinen als Paramagnetik oder Paramagnetismus bezeichnet. Beispielsweise wird ein solches paramagnetisches Verhalten typischerweise von Eisenoxiden mit einer Kristallgröße kleiner als ca. 300 Å aufgewiesen, wohingegen Eisenoxide mit einer Kristallgröße größer als ca. 500 Å das Merkmal aufweisen, daß sie auf ein magnetisches Feld mit dann entstehender permanenter Magnetisierung reagieren. Demgemäß können diese magnetisch reagierenden Reagenspartikel magnetischen Feldern ausgesetzt werden, ohne permanent magnetisiert zu werden, was andernfalls zu deren unerwünschter magnetischer Aggregation während der Durchführung eines Immunoassay führen würde. Diese magnetisch reagierenden Partikel sind im Stand der Technik bekannt und kommerziell erhältlich oder können gemäß im Stand der Technik bekannter Verfahren hergestellt werden, wie in US-PS 4,335,094, worin ein Polymer mit Gittern oder Poren mit einem darin abgeschiedenen magnetischen Material angewandt wird, in US-PS 4,339,337 und 4,358,388, worin ein magnetischer Kern, umgeben von einem vinylaromatischen Polymer, angewandt wird, in US-PS 4,452,773, worin kolloidales magnetisches Eisenoxid, überzogen mit einem Polysaccharid mit funktionellen Gruppen zur kovalenten Bindung biologischer Moleküle, angewandt wird, und in US-PS 4,554,088 und 4,628,037, worin ein Metalloxidkern, der im großen und ganzen von einem Silanüberzug umgeben ist, angewandt wird, beschrieben.

Vorzugsweise sind diese einheitlichen Latexpartikel in wäßrigem Medium ohne durch Gravitation hervorgerufenen signifikantes Absetzen dispergierbar oder suspendierbar und sind deshalb befähigt, in der Reaktionsmischung ohne konstantes Vermischen in Suspension zu bleiben, d. h., sie sind wassersuspendierbar. Demnach sind zusammen mit der Brownschen Bewegung und dem hohen Oberflächen:Volumen-Verhältnis wirksame und rasche Bindungskinetiken sichergestellt.

Der Analyt oder sein bindendes Analogon können gemäß bekannter Verfahren auf diesen paramagnetischen Partikeln immobilisiert werden. Wenn es beispielsweise erwünscht ist, den Analyt oder sein bindendes Analogon an das magnetisch reagierende Reagenspartikel kovalent zu binden, sollte das Partikel polyfunktionell oder befähigt sein, mit funktionellen Gruppen polyfunktionalisiert zu werden, welche beispielsweise gemäß bekannter kovalenter Kupplungsverfahren inkorporiert werden können (siehe z. B. Cuatrecasas, J. Biol. Chem. Vol. 245, S. 3059 [1970]).

Funktionelle Gruppen schließen Carboxylsäuren, Aldehyde, Amine, Amide, aktivierte Ethylene, wie Maleimid, Hydroxyle, Sulfonsäuren, Mercaptane und dgl., ein. Beispielsweise wird die Kupplung von Analyten und anderen biologischen Molekülen an Agarose und Polyacrylamide von W. B. Jacoby und M. Wilchek, Methods in Enzymology Vol. 34, Academic Press, New York (1974) beschrieben.

Wie ein Fachmann in Würdigung der vorstehenden Erwägungen verstehen wird, kann ein immunometrischer Assay unter Verwendung der Vorrichtung durchgeführt werden, indem man diese immunometrischen Assayreagenzien entlang Reaktionskanal 49 einbringt, wie oben beschrieben. Es sollte klar sein, daß, wenn die Vorrichtung 40 verwendet wird, um einen solchen immunometrischen Assay durchzuführen, ein Pufferreagens, ein Verdünnungsmittel oder dgl. im Flüssigkeitsabgabereservoir 30 enthalten sind, um zur geeigneten Zeit in den Reaktionskanal 49 eingeführt werden können. Alternativ dazu, wenn die nachweisbare chemische Gruppe des markierten Reagens eine nachweisbare Eigenschaft besitzt, wie eine Enzymmarkierung, kann das Flüssigkeitsabgabereservoir 30 mit einem flüssigen Reagens gefüllt sein, welches eine Nachweismittelkomponente für eine solche chemische Gruppe enthält, wie ein chromogenes Substrat für das Enzym, und das Reagens kann in den Reaktionskanal 49 am Ende des Assay eingeführt werden, um mit der Enzymkomponente des markierten Reagens wechselzuwirken, um die nachweisbare Reaktion zu ergeben.

Die vorliegende Kassettenvorrichtung enthält Flußunterbrechungselemente, um die kritische Vermischung der verschiedenen Reagentien und Materialien zu ermöglichen, welche in einer flüssigen Mischung enthalten sein können, die innerhalb des Reaktionskanals der Kassette erzeugt wird. Wie in obigen Beispielen der Vorrichtung dargelegt, können diese Unterbrechungselemente ein Wandteil des Reaktionskanals sein, der eine Ecke oder einen Konvergenzpunkt in der Reaktionskanalwand bildet. Eine solche Ecke wird im allgemeinen einen Winkel zwischen ca. 75° und ca. 105° bilden, wobei herausgefunden wurde, daß ein Winkel von ca. 90° besonders geeignet ist.

Es ist anzumerken, daß die Flußunterbrechungselemente zusätzlich zu den bereits beschriebenen Eckenkonstruktionen ganz allgemein auch jede im Reaktionskanal angeordnete Struktur umfassen können, die den Fluß einer Flüssigkeit entlang des Kanals in hinreichendem Maße umlenken, um das erwünschte Vermischungsergebnis zu liefern. Beispielsweise könnte eine alternative Form eines Flußunterbrechungselements nahezu ein jedes Hindernis sein, das im Reaktionskanal angeordnet ist, um den Flüssigkeitsfluß bei Auftreffen auf das Hindernis abzulenken, umzulenken oder auf sonstige Weise geeignet abzuändern. Ein solches Hindernis kann eine feste Ablenkungs- oder Dammstruktur aufweisen, die sich senkrecht nach oben von der Perimeterwand, die den Reaktionskanal bildet, und quer über die gesamte Breite des Kanals erstreckt, wobei die Höhe einer

solchen Ablenkungskonstruktion normalerweise niedriger als die Höhe der entlang des Reaktionskanals fließenden flüssigen Mischung ist, so daß die Flüssigkeit sich über die Oberkante der Ablenkungskonstruktion ergießt, wodurch eine Turbulenz der Vermischungswirkung erzeugt wird.

Alternativ dazu könnte man anstatt einer festen Ablenkung oder eines Damms eine perforierte Struktur mit Öffnungen oder senkrechten oder waagerechten Schlitzen in der Ablenkungswand bilden, welche den Durchfluß durch die Ablenkung einschränken, um die notwendige Vermischungswirkung zu erzielen.

Flußunterbrechungselemente können auch Mehrfachstrukturen umfassen, die sich nach oben von der Perimeterwand oder quer zu den Seitenwänden erstrecken, oder eine Kombination beider. Es ist ersichtlich, daß der Fachmann auf dem Gebiet der Strömungstechnik auch andere Formen von Hindernissen und andere Strukturen entwerfen kann, welche die angestrebten Bewegungskräfte im Reaktionskanal bei Oszillation der Kassettenvorrichtung ergeben und somit als Flußunterbrechungselemente der vorliegenden Erfindung dienen können.

Es ist experimentell belegt worden, daß die Verwendung geeigneter Flußunterbrechungselemente gemäß der vorliegenden Erfindung das Ausmaß der Vermischung in der flüssigen Testmischung beachtlich verbessert. In einem Experiment wurde ein Vergleich durchgeführt zwischen:

- (a) Vorrichtungen, die gemäß Fig. 3 bis 5 der vorliegenden Anmeldung hergestellt waren und somit Flußunterbrechungselemente enthalten (diese Vorrichtungen sollen als „viereckige Kassette“ bezeichnet werden),
- (b) Vorrichtungen, die hergestellt waren, wie in Fig. 1 bis 4 der Zeichnungen und dem dazugehörigen Text in der allgemein angemeldeten US-Anmelde-Nr. 179,843 vom 11.04.1988 beschrieben, deren Priorität hier beansprucht wird (diese Vorrichtungen werden auf einem ähnlichen nicht-zentrifugalen Vermischungsprinzip wie die vorliegende Vorrichtung betrieben, sind jedoch im allgemeinen abgerundet, und in ihnen sind keine Flußunterbrechungselemente, wie sie hier beabsichtigt sind, vorgesehen – diese Vorrichtungen werden als „runde Kassetten“ bezeichnet) und
- (c) Küvetten, die als Vergleiche dienten, in welche eine gründlich vermischte flüssige Reaktionsmischung gegeben und in denen dann eine Messung vorgenommen wurde („Vergleichsküvetten“).

Der durchgeführte Assay war ein turbidimetrischer Immunoassay für HbA_{1c}, wie oben beschrieben. Der Grad der Vermischung in den verschiedenen Kassetten wurde bewertet, indem die Präzision des in den Kassetten durchgeführten Immunoassays gemessen wurde. Gründliches Vermischen eliminierte die Zeitabhängigkeit und einen Irreproduzierbarkeitsfaktor aus dem Immunoassay, was zu einer guten Präzision der Messung führt. Für die runden und viereckigen Kassetten wurden der Antikörper-Latex und die Agglutinatorreagenzien in flüssiger Form in die auseinandergebauten Vorrichtungen an geeigneten Zonen der jeweiligen Vorrichtungen eingebracht und die Reagentien getrocknet, z. B. für die viereckige Kassette mit Bezug auf die hier vorliegende Figur 3, der Antikörper-Latex wurde in Reagenzzone 62 und der Agglutinator in Zone 63 gegeben. Diese Vorrichtungen wurden dann zusammengebaut, wie oben beschrieben.

Zur Durchführung der Immunoassays in den viereckigen und runden Kassetten wurden annähernd 0,5 ml Denaturierungslösung der Vorrichtung zugefügt und mit einer Bluttestprobe und den Immunoassayreagenzien gemäß der jeweiligen Verfahrensbedingungen für die beiden Typen von Vorrichtungen vermischt. Für die Vergleichsküvetten wurde die Denaturierungslösung zuerst der Vorrichtung zugefügt und mit der Testprobe vermischt. Danach wurden die Immunoassayreagenzien in der Form einer gründlich vermischten flüssigen Lösung zugegeben. Die Agglutinationsreaktion wurde dann in allen Kassetten durch turbidimetrische Messung bestimmt. Der Koeffizient der Variation (Abweichung) („CV“) wurde dann für jeden Vorrichtungstyp aus den Ergebnissen mehrfacher Testläufe berechnet. Die Ergebnisse sind nachfolgend in Tabelle A dargelegt:

Tabelle A

Vorrichtungstyp	CV (%)
Vergleich	1,4
Runde Kassette	3,8–11,9*
Viereckige Kassette	1,5

* die Ergebnisse variierten stark innerhalb dieses Bereichs.

Diese experimentellen Ergebnisse belegen, daß die Verwendung von Flußunterbrechungselementen gemäß der vorliegenden Erfindung eine signifikante Verbesserung beim Vermischen und somit bei der Präzision des Assays (viereckige Kassette gegenüber runder Kassette) ergeben und daß die dadurch erreichte Präzision ungefähr identisch ist mit derjenigen, die erreicht wird, wenn vorgemischte flüssige Reagentien verwendet werden.

Die vorliegende Erfindung kann zum Nachweis oder der Bestimmung von Analyten in einer großen Vielzahl von Testproben angewandt werden. Jede Form von Material kann als die Testprobe dienen, vorausgesetzt, es liegt in einer flüssigen Form vor oder kann in einer flüssigen Form aufgenommen werden, wie durch Extraktion, Auflösung, Suspension oder dgl. Normalerweise ist die Testprobe ihrer Natur nach flüssig und schließt biologische Flüssigkeiten ein, wie Blut, Serum, Plasma, Urin, Gehirnflüssigkeit, Rückenmarksflüssigkeit, Speichel, Abstrichextrakte, Auswurf usw. Nicht-biologische Specimen können ebenfalls untersucht werden, wie industrielle, Nahrungsmittel- und Umweltflüssigkeiten. Eine flüssige Testprobe kann auch das Ergebnis einer Probenvorbehandlung sein, wie Verdünnung, Filtration, Konzentration, chemische Behandlung usw. Alle diese Proben liegen im Rahmen des Fachwissens.

Die obenbeschriebenen Analyseassayverfahren können zur Bestimmung einer Vielzahl von Analyten herangezogen werden. Der Analyt ist üblicherweise ein Peptid, Polypeptid, Protein, Kohlenhydrat, Glycoprotein, Steroid, eine Nukleinsäure oder ein anderes organisches Molekül, für das es einen Bindungspartner gibt oder das in biologischen Systemen herstellbar oder synthetisiert werden kann. Der Analyt wird bezüglich seiner Funktion üblicherweise aus der Gruppe ausgewählt, umfassend Antigene, Haptene, komplementäre Polynucleotidsequenzen, Hormone, Vitamine, Metaboliten und Arzneimittel. Üblicherweise ist der Analyt ein immunologisch-aktives Polypeptid oder Protein, üblicherweise mit einem Molekulargewicht zwischen ca. 1000 und ca. 10000000, wie ein antigenes Polypeptid oder Protein, oder ein Hapten mit einem Molekulargewicht von mindestens ca. 100 und üblicherweise weniger als ca. 1500.

Repräsentative Polypeptid-Analyte sind Angiotensin I und II, C-Peptid, Oxytocin, Vasopressin, Neurophysin, Gastrin, Sekretin, Bradykinin und Glucagon.

Repräsentative Proteinanalyte schließen die Klassen der Protamine, Mucoproteine, Glucoproteine, Globuline, Albumine, Skleroproteine, Phosphoproteine, Histone, Lipoproteine, einschließlich, jedoch nicht einschränkend, Apolipoproteine, wie Apolipoprotein-AI und Apolipoprotein-B 100, Chromoproteine und Nukleoproteine, ein. Beispiele spezifischer Proteine sind Pr albumin, alpha-Lipoproteine, Human-Serumalbumin, alpha-saures Glycoprotein, alpha₁-Antitrypsin, alpha₂-Glycoprotein, Transkordin, Thyroxin bindendes Globulin, Haptoglobin, Hämoglobin, die glycierte Peptidsequenz in der beta-Untereinheit von Human-Hämoglobin, Myoglobulin, Ceruloplasmin, alpha₂-Makroglobulin, beta-Lipoprotein, Erythropoietin, Transferrin, Hämoexin, Fibrinogen, die Immunoglobuline wie IgG, IgM, IgA, IgD und IgE und deren Fragmente, z. B. Fc und Fab'-Komplementfaktoren, Prolaktin, Blutgerinnungsfaktoren, wie Fibrinogen, Thrombin usw., Insulin, Melanotropin, Somatotropin, Thyrotropin, Follikel-stimulierendes Hormon, Leutinisierungshormon, Gonadotropin, human chorionisches Gonadotropin, Thyroid-stimulierendes Hormon, placentales Laktogen, Intrinsic-Faktor, Transcobalamin, Serumenzyme, wie alkalische Phosphatase, Milchsäuredehydrogenase, Amylase, Lipase, Phosphatase, Cholinesterase, Glutamin-Oxallessigsäure-Transaminase, Glutamin-Brenztraubensäure-Transaminase, und Uropepsin, Endorphine, Enkephaline, Protamin, Gewebe-Antigene, bakterielle Antigene, virale Antigene, wie mit Hepatitis zusammenhängende Antigene (z. B. Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen, Hepatitis-B-Kern-Antigen und Hepatitis-B-e-Antigen und Tumormarkierungsmittel [z. B. karcinoembryonisches Antigen, alpha-Fetoprotein, prostatisc saure Phosphatase, prostatisc spezifisches Antigen, Neuron-spezifische Enolase, Oestrogenrezeptor, Krebsantigen 125 Krebsantigen 19-9 und dgl.].

Repräsentative Hapten-Analyte schließen die allgemeinen Klassen von Arzneien, Metaboliten, Hormonen, Vitaminen, Toxinen und ähnlichen organischen Verbindungen ein. Hapten-Hormone schließen Thyroxin und Trijodthyronin ein. Vitamine schließen di Vitamine A, B, z. B. Thiamin, B₁₂, C, D, E und K und Folsäure ein. Arzneimittel schließen Antibiotika, wie Aminoglycoside, z. B. Gentamicin, Tobramycin, Amikacin, Sisomicin, Kanamycin und Netilmicin, Penicillin, Tetracyclin, Terramycin, Chloromycetin und Aktinomycetin, Nukleoside und Nukleotide, wie Adenosintriphosphat (ATP), Flavinmononukleotid (FMN), Nikotinamidadeninukleotid (NAD) und sein Phosphatderivat (NADP), Thymidin, Guanosin und Adenosin, Prostaglandine, Steroide, wie die Oestrogene, z. B. Pestirol und Oestradiol, Sterogene, Androgene, Digoxin, Digitoxigenin, Digitoxin, Digoxigenin, 12-O-Acetyldigoxigenin und adrenocorticale Steroide, und andere, wie Phenobarbital, Phenytoin, Primidon, Ethosuximid, Carbamazepin, Valproat, Theophyllin, Koffein, Propanolol, Procainamid, Chinidin, Amitryptilin, Kortison, Desipramin, Disopyramid, Doxepin, Doxorubicin, Nortryptilin, Methotrexat, Imipramin, Lidocain, Procainamid, N-Acetylprocainamid, Amphetamine, Katecholamine und Antihistamine ein. Toxine schließen Acetyl-T-2-Toxin, Alfatoxin, Choleratoxin, Zitrinin, Zytochalsine, Staphylococcalenterotoxin B, HT-2-Toxin und dgl. ein.

Es sollte ferner klar sein, daß die Vorrichtung der vorliegenden Erfindung nicht auf die Durchführung der vorstehend spezifisch beschriebenen Assayverfahren beschränkt sein soll, sondern daß sie auch mit Analyse-einrichtungen zur Durchführung einer Vielzahl anderer bekannter Assayverfahren beaufschlagt werden kann. Beispielsweise schließen solch andere Assayverfahren, jedoch nicht darauf eingeschränkt, das Apoenzymreaktivierungsimmoassaysystem (ARIS) gemäß US-PS 4 238 565, den Substrat-markierten (labeled) Fluoreszenzimmoassay (SLFIA) gemäß US-PS 4 279 992, den Enzyminhibitor-markierten Immoassay gemäß US-PS 4 134 792, die Enzym-Multiimmoassaytechnik (EMIT[®]) gemäß US-PS 3 817 837 und 4 043 872, den klonierten Enzymdonorimmoassay (CEDIA[®]) gemäß US-PS 4 708 929 und den Fluoreszenzpolarisationsimmoassay (TDX[®]) gemäß US-PS 4 510 251 und dgl. ein.

Die Vorrichtung kann von Hand bedient werden, wie obenbeschrieben, und die nachweisbare Reaktion, die durch eine oder mehrere der Reaktionsmischungen hervorgerufen wird, kann nachgewiesen und mit einem im Stand der Technik bekannten optischen Instrument gemessen werden, wie durch Übertragungsabsorption oder -streuung und dgl. Es sollte klar sein, daß Körperelement und Deckelement durchsichtig hergestellt werden, zumindest im Bereich einer ausgewählten Ecke, welche als eine Sichtzone dient, um ein Sichtfenster bereitzustellen, um eine solche optische Messung der Reaktionsmischungen zuzulassen. Wenn die Vorrichtung von Hand betrieben wird, sind die Stützwand und das Deckelement vorzugsweise durchsichtig, und zwar im wesentlichen in ihrer Gesamtheit, um es einer Bedienungsperson zu ermöglichen, Bewegung und Aufenthalt einer in die Verbindung eingebrachten flüssigen Testprobe zu beobachten.

Vorzugsweise wird die Vorrichtung mit einer einfachen mechanischen, nicht-zentrifugalen Rotationsvorrichtung betrieben, die angepaßt ist, um die Vorrichtung in einer im wesentlichen senkrecht orientierten Position aufzunehmen, wie in den Zeichnungen gezeigt, und welche die Vorrichtung nicht-zentrifugal rotiert und oszilliert, wie obenbeschrieben. Die Rotationsvorrichtung kann beispielsweise durch einen elektrischen Stufenmotor betrieben werden, der seinerseits von einem Mikroprozessor gesteuert wird, der programmiert ist, um die Vorrichtung in der gewünschten Richtung und in der gewünschten Reihenfolge zu rotieren, einschließlich der stationären Positionen für Zeiträume der Inkubation sowie den Nachweis und Messung einer oder mehrerer Nachweisreaktionen. Eine solche mechanische Vorrichtung wird auch ein optisches System zum Nachweis und zur Messung der Nachweisreaktion einschließen, wie ein optisches System der Übertragungsabsorption oder -streuung, welches in der mechanischen Vorrichtung im wesentlichen an der horizontalen Rotationsachse der Vorrichtung angeordnet ist, d. h. in Verbindung stehend mit einer Ecke der Vorrichtung. Eine solche mechanische Vorrichtung kann auch Heizelemente, wie stationäre Erhitzer oder einen Typ einer rotierenden Kontaktplatte mit Leitungsverbindungen, um eine flüssige Testprobe oder Reaktionsmischungen zu erwärmen, falls gemäß eines besonderen Assayprotokolls erforderlich, sowie optische Sensoren zur genauen Positionierung der Vorrichtung in der mechanischen Vorrichtung einschließen. Vorzugsweise sind die verschiedenen mechanischen und elektronischen Komponenten in einem geräumigen Gehäuse untergebracht, das beispielsweise eine Aussparung oder Öffnung zur Aufnahme der Vorrichtung oder, falls es gewünscht ist, ein Assayprotokoll an mehr als einer flüssigen Testprobe gleichzeitig durchzuführen, zur Aufnahme von mehr als einer Vorrichtung der vorliegenden Erfindung enthält.

Die Vorrichtung der vorliegenden Erfindung kann geformt oder in sonstiger Weise aus verschiedenen formbaren bekannten Materialien hergestellt sein, welche, jedoch nicht darauf eingeschränkt, Glas, Kunststoff, wie Polystyrol, Acryl, Polyethylenterephthalat, Polycarbonat und dgl. einschließen. Es sollte klar sein, daß, sowohl benetzbare oder hydrophile Materialien bevorzugt sind, nicht-benetzbare oder hydrophobe Materialien verwendet werden können, die vorbehandelt werden sind, wie obenbeschrieben.

Es sollte auch klar sein, daß die Konfiguration der funktionalen Wände, entlang denen eine flüssige Testprobe geleitet und transportiert wird, nicht darauf beschränkt sein soll, wie sie hier beispielhaft gezeigt wurde, und modifiziert werden kann,

vorausgesetzt, daß die funktionalen Vorrichtungen jedenfalls dazu dienen, zum Transport einer flüssigen Testprobe beizutragen und sie entlangzuleiten, wie oben beschrieben. Beispielsweise können, mit Bezug auf die Vorrichtung 40, gezeigt in Fig. 3 und 4, die Seitenwände 44 und Innenwände 45, 46 und 50 V-förmig, U-förmig oder andersartig ausgestaltet sein, um einen Durchgangskanal oder -leitung zur Unterstützung und Führung einer flüssigen Testprobe bereitzustellen. Zudem kann die Stützwand 47 stattdessen als ein separates Element vorgesehen sein, wie dies auch das Deckelement 43 ist, wobei erste und zweite Innenwände 45 und 46 und Innenwand 50 mit der Seitenwand 44 integriert und durch ein solch separates Stützwand 47 und das Deckelement 43 abgeschlossen werden. Eine solche separate Stützwand 47 und das Deckelement 43 können ebenfalls in der Form einer dünnen, flexiblen Membran, eines Films oder eines dünnen Kunststoffes vorliegen, die durch Lösungsmittel verschweißt, durch Laser verschweißt, durch Ultraschall verschweißt, verklebt oder andersartig an der Seitenwand 44 befestigt sein können. Die Vorrichtung 40 kann auch modifiziert werden, um ein zusätzliches offenes Körperelement einzuschließen, das im wesentlichen dieselben Abmessungen des Körperelements 42 aufweist und angepaßt ist, um durch die Stützwand 47 und das Körperelement 42 abgeschlossen ist, und zwar in ähnlicher Weise, durch die das Körperelement 42 durch das Deckelement 43 oder alternativ dazu durch ein zusätzliches Deckelement 43 abgeschlossen zu werden. Ein solches zusätzliches Körperelement kann angepaßt sein, um eine Ausdehnung von Reaktionskanal 49 einzuschließen, um zusätzliche Analysereagenzien unterzubringen, indem beispielsweise eine Aussparung oder Öffnung in Stützwand 44 vorgesehen ist. Dies ergibt eine offene Fließverbindung der Flüssigkeit zwischen dem Reaktionskanal und einer solchen Ausdehnung dafür.

Weitere Variationen und Modifikationen für besondere Verwendungen sind ebenfalls offensichtlich. Beispielsweise kann ein Körper oder eine Masse von Absorbensmaterial in der Kassette angeordnet sein, um das volle Volumen der flüssigen Mischung in der Vorrichtung nach Beendigung des Assays zu absorbieren. Auf diese Weise verbleibt keine frei fließende Flüssigkeit in der Vorrichtung zum Zeitpunkt der Entsorgung, wodurch die Gefahr einer Kontamination oder einer unerwünschten Leckage oder einem Austritt aus der Vorrichtung vermindert wird. Die Absorbensmasse wird beispielsweise an einem Ende des Reaktionskanals angeordnet, und bei Beendigung des Assayverfahrens wird die Vorrichtung gedreht, um die flüssige Mischung in Kontakt mit dem Absorbens zu bringen. Beispielsweise kann ein solches Absorbenselement innerhalb des Hohlkörpers von Kapillalarhalter 41 angeordnet sein, wobei eine Öffnung in dem Halter gebildet worden ist, um den Fluß einer Flüssigkeit in den Hohlkörper bei Drehung der Kassette zu erlauben. Auch kann das Äußere der Vorrichtung mit einem Schlüsselement ausgestaltet sein, das eine saubere Einbringung und Anordnung in der Rotationsvorrichtung sicherstellt. Es ist offensichtlich, daß andere Modifikationen und Variationen der Erfindung als die hier dargelegten möglich sind, ohne von Inhalt und Umfang der Erfindung abzuweichen, und daß demgemäß solche Einschränkungen lediglich auferlegt sind, wie durch die anliegenden Ansprüche aufgezeigt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

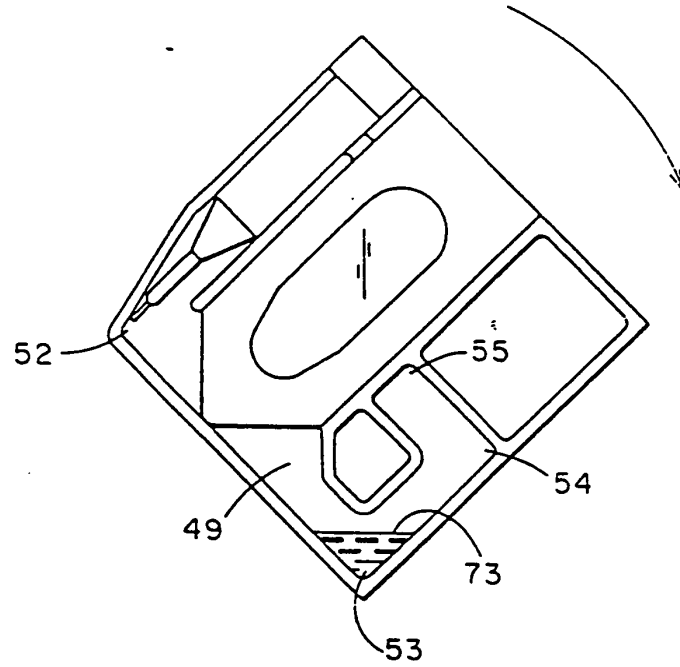


FIG. 5h

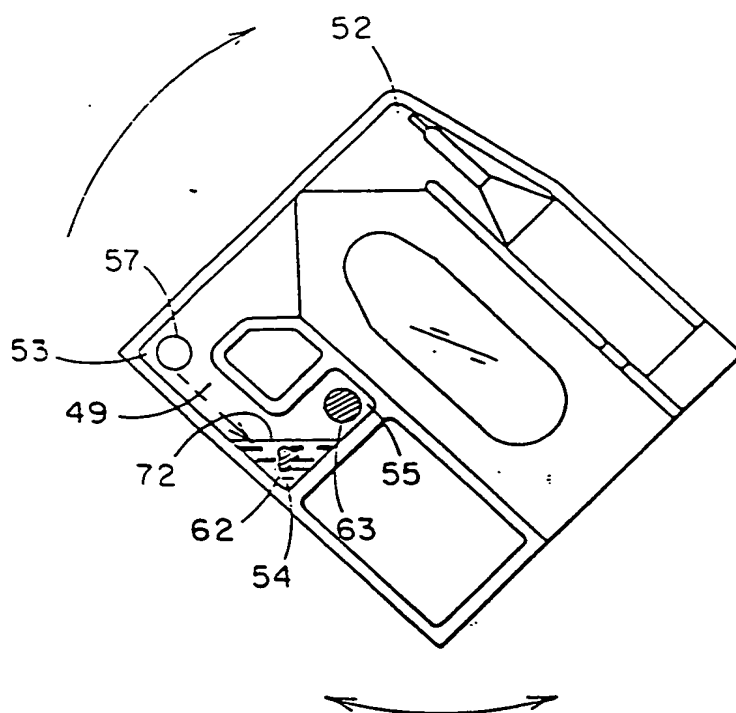


FIG. 5f

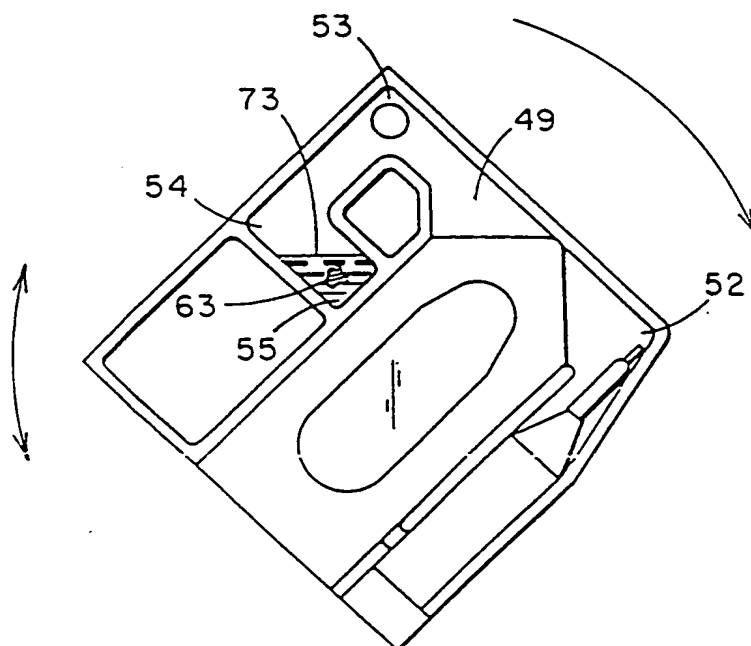


FIG. 5g

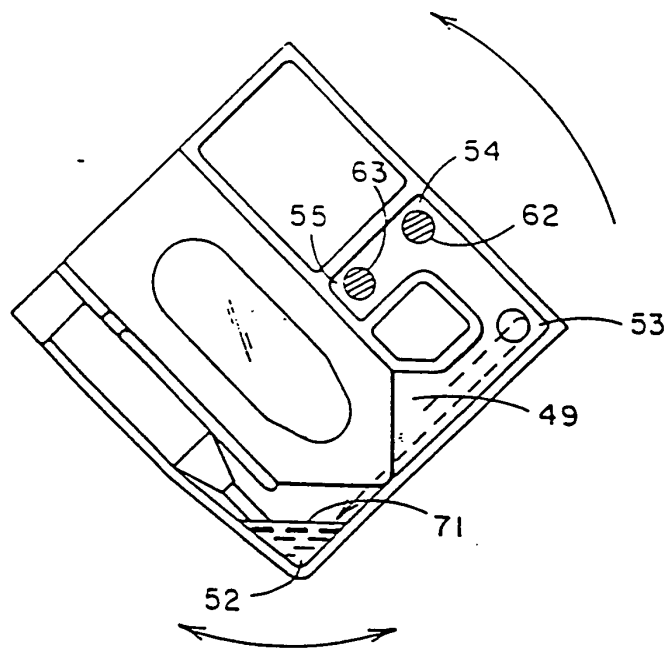


FIG. 5d

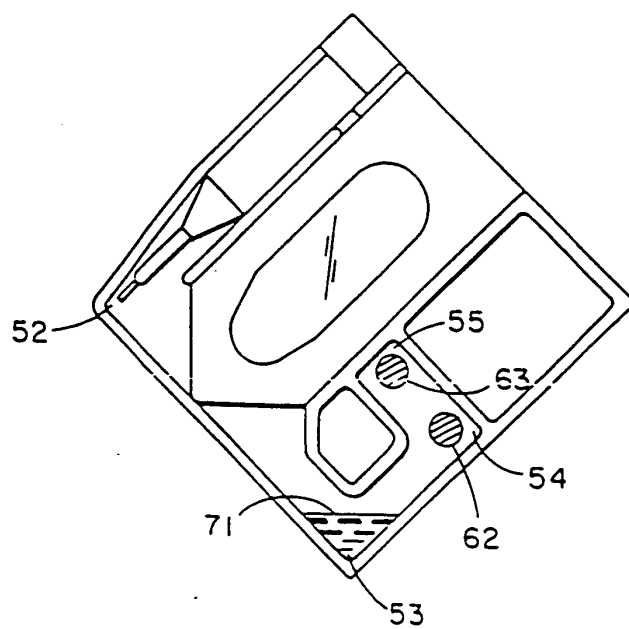


FIG. 5e

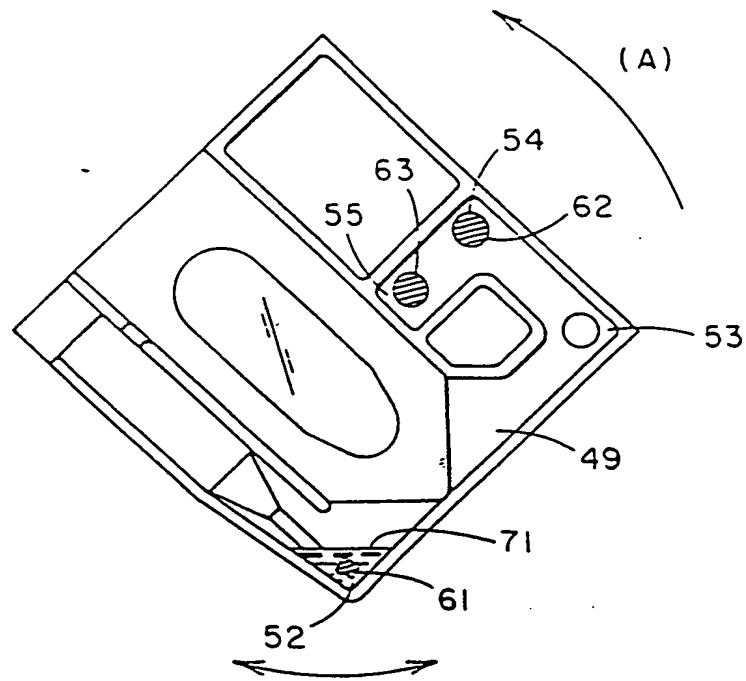


FIG. 5b

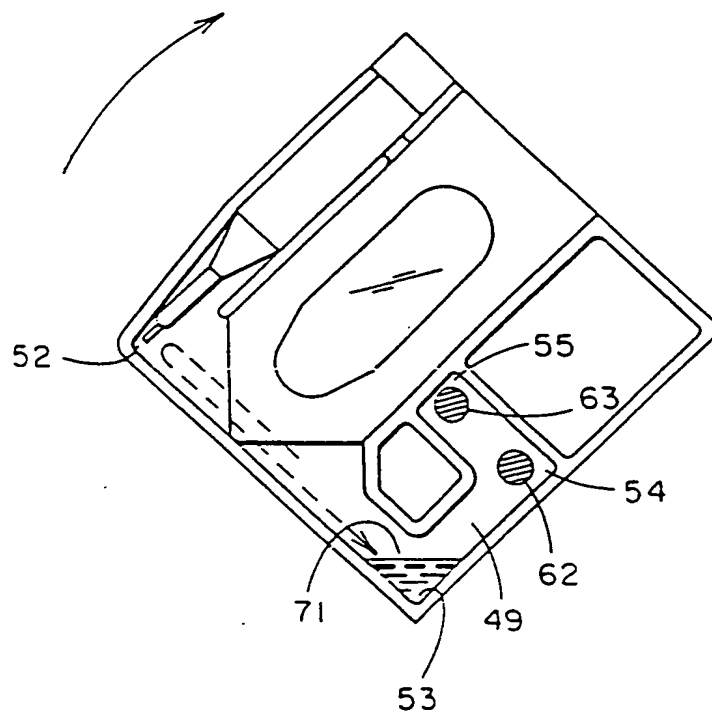


FIG. 5c

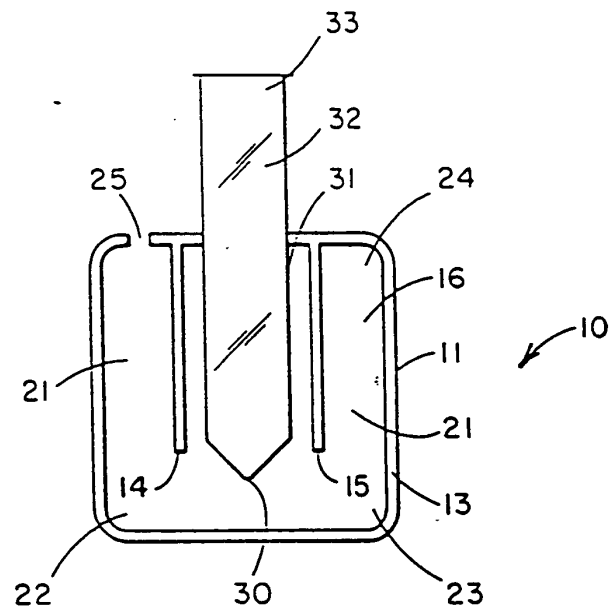


FIG. 1

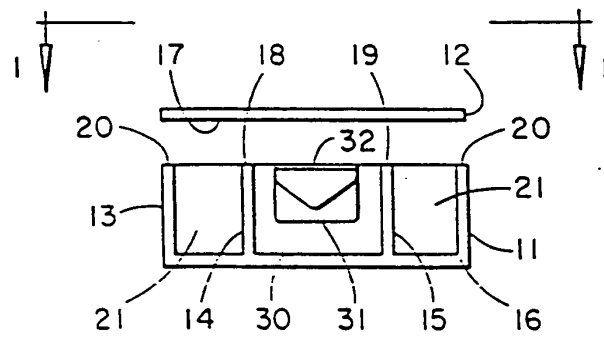


FIG. 2

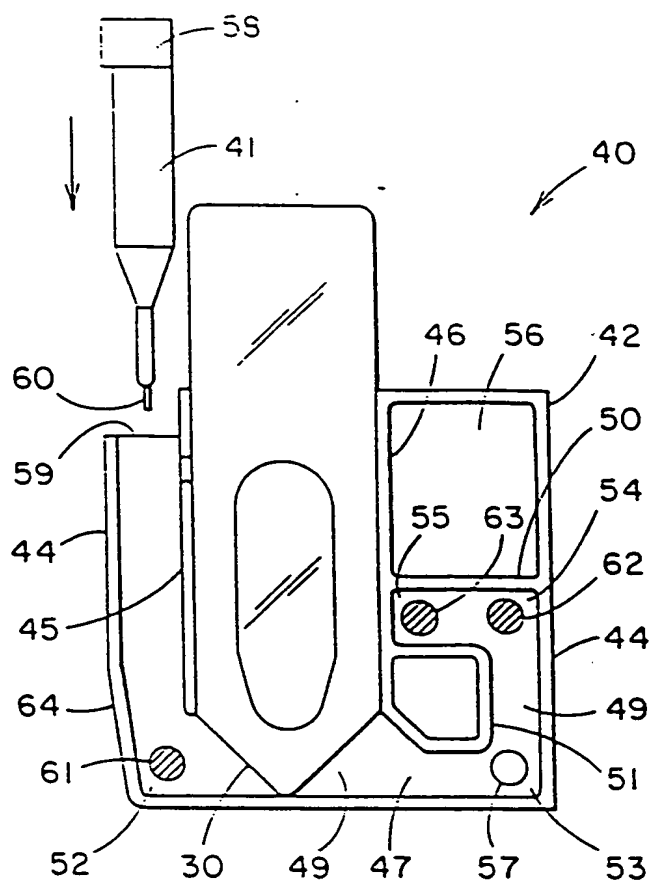


FIG. 3

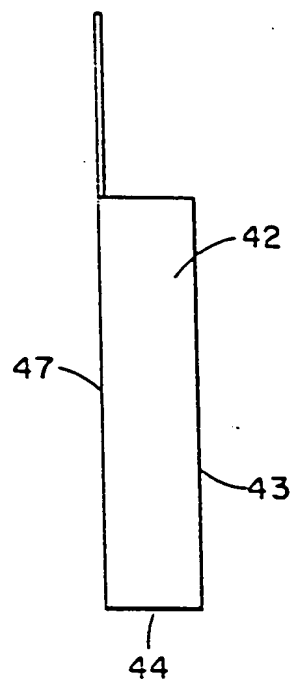


FIG. 4

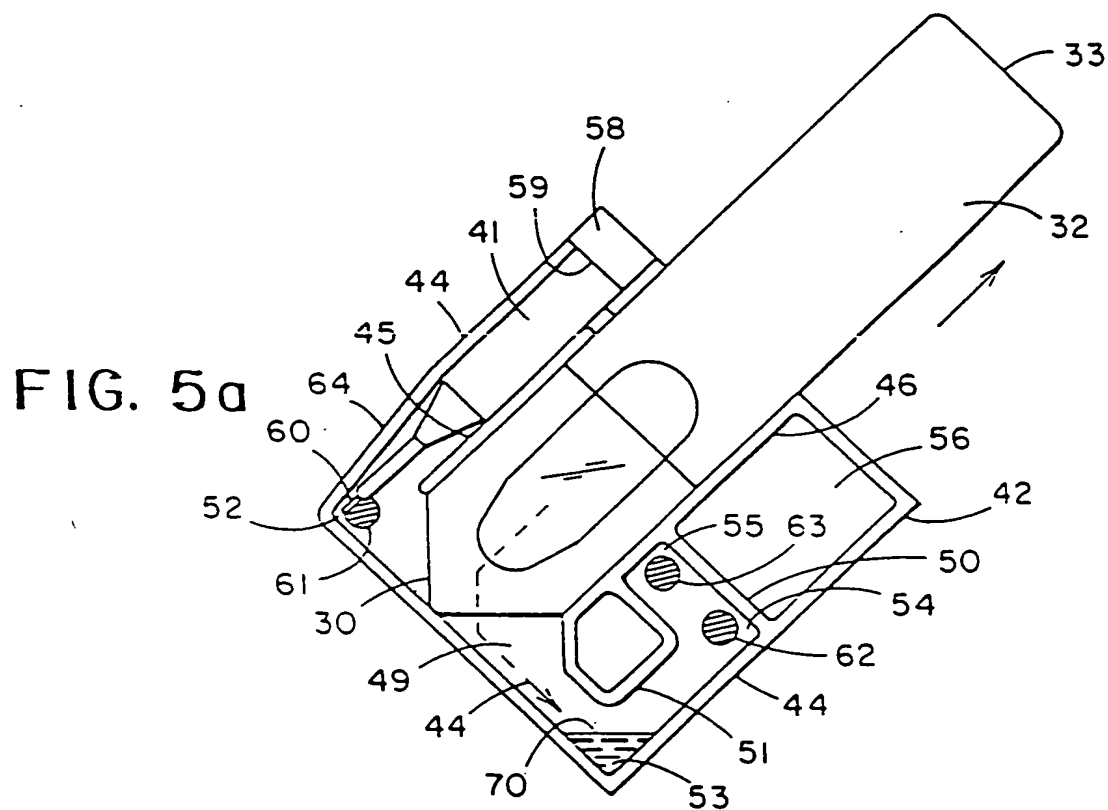


FIG. 5a